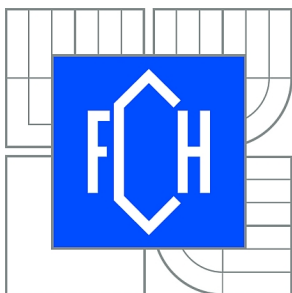




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STANOVENÍ RTUTI V RYBÁCH A V RYBÍCH PRODUKTECH

DETERMINATION OF MERCURY IN SELECTED FISH SPECIES AND IN FISH PRODUCTS

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Bc. KATEŘINA KROUPOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

Ing. PAVEL DIVIŠ, Ph.D.

BRNO 2011



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0566/2010	Akademický rok: 2010/2011
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Bc. Kateřina Kroupová	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (N2901)	
Studijní obor:	Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010)	
Vedoucí práce	Ing. Pavel Diviš, Ph.D.	
Konzultanti:		

Název diplomové práce:

Stanovení rtuti v rybách a v rybích
produktech

Zadání diplomové práce:

Cílem práce je stanovení rtuti ve vybraných rybách a v rybích produktech a konfrontace naměřených dat s platnými právními normami.

Termín odevzdání diplomové práce: 20.5.2011

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Kateřina Kroupová
Student(ka)

Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 15.1.2011

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Teoretická část diplomové práce se zabývá výskytem různých chemických forem rtuti v životním prostředí a popisuje analytické techniky používané ke stanovení rtuti v biologických materiálech. V praktické části byla stanovena koncentrace rtuti ve 14 vzorcích ryb a rybích výrobků reprezentujících běžný spotřební koš. Analýza byla provedena pomocí jednoúčelového absorpčního spektrometru AMA 254. Naměřené výsledky byly statisticky zpracovány a konzultovány s platnou legislativní normou EU.

KLÍČOVÁ SLOVA

Atomová absorpční spektrometrie, rtuť, ryby, rybí produkty.

ABSTRACT

Theoretical part of the master thesis deals with the occurrence of different mercury species in the environment and describes analytical methods used for determination of mercury in biological samples. In practical part of the master thesis mercury concentration in 14 samples of selected fish and fish product was determined using single purpose absorption spectrometer AMA 254. Measured results were statistically processed and consulted with EU legislative norm.

KEYWORDS

Atomic absorption spectrometry, mercury, fish, fish products.

Bc. KROUPOVÁ, K. Stanovení rtuti ve vybraných rybách a rybích výrobcích. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 62 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucí diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji vedoucímu diplomové práce Ing. Pavlovi Divišovi, Ph.D. za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé diplomové práce.

OBSAH

ÚVOD.....	11
1 TEORETICKÁ ČÁST.....	12
1.1 CHEMICKÉ FORMY RTUTI A JEJICH ZDROJE	12
1.1.1 <i>Vlastnosti rtuti</i>	12
1.1.2 <i>Zdroje rtuti</i>	13
1.2 BIO-CHEMICKÝ CYKLUS RTUTI.....	14
1.2.1 <i>Enviromentální hladiny celkové rtuti a methylrtuti</i>	14
1.2.2 <i>Rtuť v atmosféře, terestrickém prostředí a vodním ekosystému</i>	14
1.2.3 <i>Biochemická alkylace rtuti</i>	16
1.2.4 <i>Bioakumulace rtuti v rybí tkáni</i>	17
1.3 ZDRAVOTNÍ RIZIKA	18
1.3.1 <i>Toxikologie anorganických sloučenin rtuti</i>	19
1.3.2 <i>Toxikologie organických sloučenin rtuti</i>	19
1.4 EXPOZIČNÍ DÁVKY	20
1.4.1 <i>Odhad denního příjmu rtuti</i>	21
1.4.2 <i>Legislativní normy</i>	23
1.5 BIOLOGICKÉ MONITOROVÁNÍ EXPOZICE RTUTÍ.....	23
1.6 STANOVENÍ RTUTI V BIOLOGICKÝCH MATRICÍCH	25
1.6.1 <i>Odběr vzorků, předpříprava, uchování</i>	25
1.6.2 <i>Metody stanovení chemických forem rtuti</i>	25
1.6.3 <i>Studie celkové rtuti v rybí svalovině</i>	33
2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	35
2.1 EXPERIMENTÁLNÍ ZAŘÍZENÍ.....	35
2.2 VZORKY RYB A RYBÍCH PRODUKTŮ	35
2.3 PRACOVNÍ POSTUPY	41
2.3.1 <i>Zpracování ryb a rybích produktů</i>	41
2.3.2 <i>Analýza vzorků na spektrometru</i>	42
2.3.3 <i>Statistické zpracování výsledků</i>	43
3 VÝSLEDKY A DISKUSE.....	44
3.1 NASTAVENÍ SPEKTROMETRU AMA 254.....	44
3.2 ANALÝZA VZORKŮ RYB A RYBÍCH PRODUKTŮ	45
3.2.1 <i>Pangasius</i>	45

3.2.2	<i>Krabí tyčinky</i>	45
3.2.3	<i>Sardinky v rostlinném oleji</i>	46
3.2.4	<i>Uzený losos, uzené šproty, uzená makrela</i>	46
3.2.5	<i>Kapr obecný, pstruh duhový</i>	48
3.2.6	<i>Sledí filety, tuňák v rostlinném oleji</i>	49
3.2.7	<i>Tolstolobik bílý, tresčí játra</i>	50
3.2.8	<i>Pražma modravá</i>	51
3.2.9	<i>Žralok modrý</i>	51
3.3	PŘEHLED NAMĚŘENÝCH VÝSLEDKŮ A POROVNÁNÍ S JINÝMI DOSTUPNÝMI STUDIEMI	52
ZÁVĚR		55
POUŽITÁ LITERATURA		56
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ		60
SEZNAM OBRÁZKŮ		61
SEZNAM TABULEK		62
SEZNAM PŘÍLOH		62
PŘÍLOHY		63

ÚVOD

Nejen v Evropě, ale i u nás stoupl zájem spotřebitelů o zdravý životní styl, který v sobě zahrnuje také konzumaci ryb. Ryby jsou cenným zdrojem kvalitních bílkovin, minerálů a vitamínů. Navíc tučné ryby obsahují významné množství omega-3 polynenasycených mastných kyselin, které mají pozitivní vliv na zdraví člověka. Kromě obsahu výživově hodnotných látek však ryby mohou obsahovat především díky dlouhodobému znečištění životního prostředí také řadu kontaminantů, jako např. rtuť, dioxiny a jiné látky, které mají schopnost ukládat se a akumulovat se v mase a v tuku. Z tohoto důvodu je nutné provádět neustálou kontrolu výrobků dodávaných na trh, neboť dlouhodobá konzumace ryb s obsahem kontaminantů může výrazně poškodit lidské zdraví.

Rtuť a její sloučeniny patří k nejtoxičtějším složkám potravního řetězce. Toxicita je závislá na formě výskytu. Za nejnebezpečnější formu rtuti je považována methylртуť. Ta se váže v organismu na enzymy a inhibuje jejich funkčnost. Její vyšší koncentraci v organismu provází neurologické symptomy. Díky své lipofilitě methylртуť proniká přes biologické membrány. Z hlediska působení sloučenin rtuti patří těhotné ženy a děti k nejvíce ohroženým skupinám. U těhotných žen se rtuť dostává přes placentární bariéru do plodu, může tak výrazně narušit jeho vývoj. U malých dětí sloučeniny rtuti způsobují závažné poruchy nervového systému. V zájmu snížení rizika pro lidské zdraví probíhá pravidelné biologické monitorování rtuti v lidské populaci.

K celkovému stanovení elementární rtuti se využívá různě modifikovaných technik atomové a emisní spektrometrie. Před samotným stanovením je nezbytné oddělit sledované prvky od interferujících složek biologické matrice. Pro stanovení celkové rtuti v reálných vzorcích ryb a rybích výrobků je použit speciální analyzátor AMA 254. Cílem této práce je vyhodnotit získaná data a srovnat je s platnými právními normami.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Chemické formy rtuti a jejich zdroje

Rtuť se vyskytuje v životním prostředí v mnoha podobách. Lze rozlišit formy anorganické, kam zařazujeme elementární rtuť, rtuťné a rtuťnaté ionty. Mezi organické formy se zařazují tzv. organortuťnaté/organokovové sloučeniny [1].

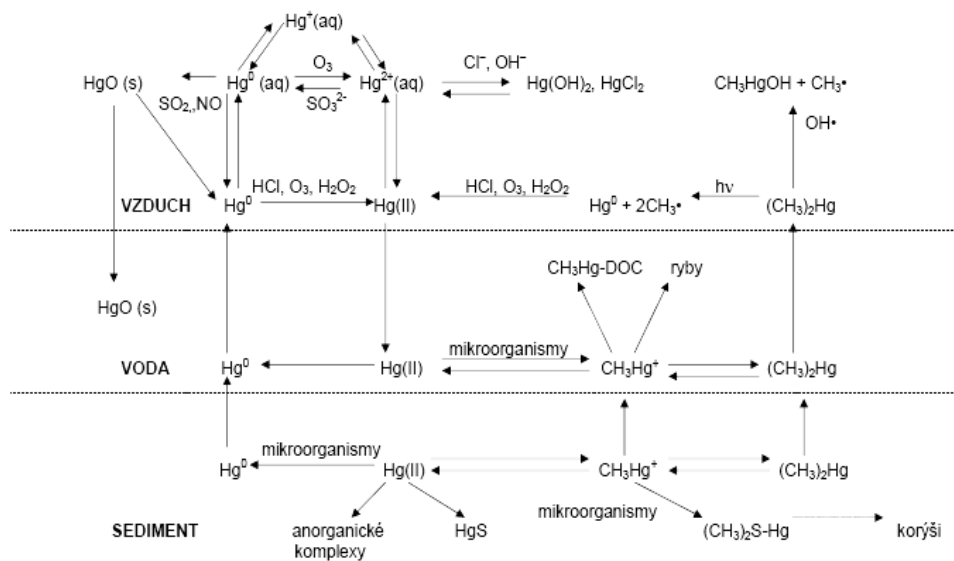
Tento těžký kov je základním prvkem země, podobně jako kadmium či olovo. Nachází se v omezeném počtu oxidačních stavů (0, +I, -II). Přesto existuje široké spektrum sloučenin, které se výrazně liší svými fyzikálními, chemickými vlastnostmi i stupněm nebezpečnosti [1][2].

1.1.1 Vlastnosti rtuti

Elementární rtuť je jediný kov vyskytující se v kapalně formě. Ve vodě je rtuť téměř nerozpustná ($0,08 \text{ mg.l}^{-1}$ při 25°C). Má nízký bod tání ($-38,9^\circ\text{C}$), poměrně vysoký bod varu ($356,7^\circ\text{C}$) a vysokou tensi par. Rtuť je výborným elektrickým vodičem a slévá se s různými kovy za vzniku amalgamů. Ty se nacházejí ve formě kapalně či pevně, podle hmotnostního zastoupení rtuti a povahy druhého kovu [2].

Mezi anorganické sloučeniny rtuti patří sulfid rtuťnatý (HgS), oxid rtuťnatý (HgO) a chlorid rtuťnatý (HgCl_2). Většinu těchto solí tvoří bílé prášky či krystaly, s výjimkou HgS . Tento červený prášek po vystavení světlu černá. Některé anorganické soli, jako například HgCl_2 , se vyskytují jako atmosférické plyny. Mezi další anorganické formy vyskytující se ve vodních ekosystémech lze zařadit komplexní sloučeniny (hydroxo a chlorokomplexy) [2].

V životním prostředí tvoří nejzávažnější riziko organické formy rtuti. Methylrtuť je nejběžnější přírodní formou rtuti. Některé mikroorganismy a přírodní procesy mohou změnit jednu formu rtuti na jinou, často toxičtější. Přeměny jednotlivých forem rtuti ve vodním ekosystému znázorňuje obr. 1.1.



Přerušovaná čára představuje hranici mezi složkami životního prostředí
aq = kapalná fáze, DOC = rozpuštěné organické látky, s = pevná fáze

Obr. 1.1: Přeměny rtuti ve vodním prostředí [1].

1.1.2 Zdroje rtuti

Rtuť je do prostředí uvolňována jak z přírodních zdrojů, tak v důsledku činnosti člověka. Ročně je do prostředí uvolňováno přibližně 6000–7500 tun rtuti. Podíl člověka se odhaduje na 25–75 % [3][4].

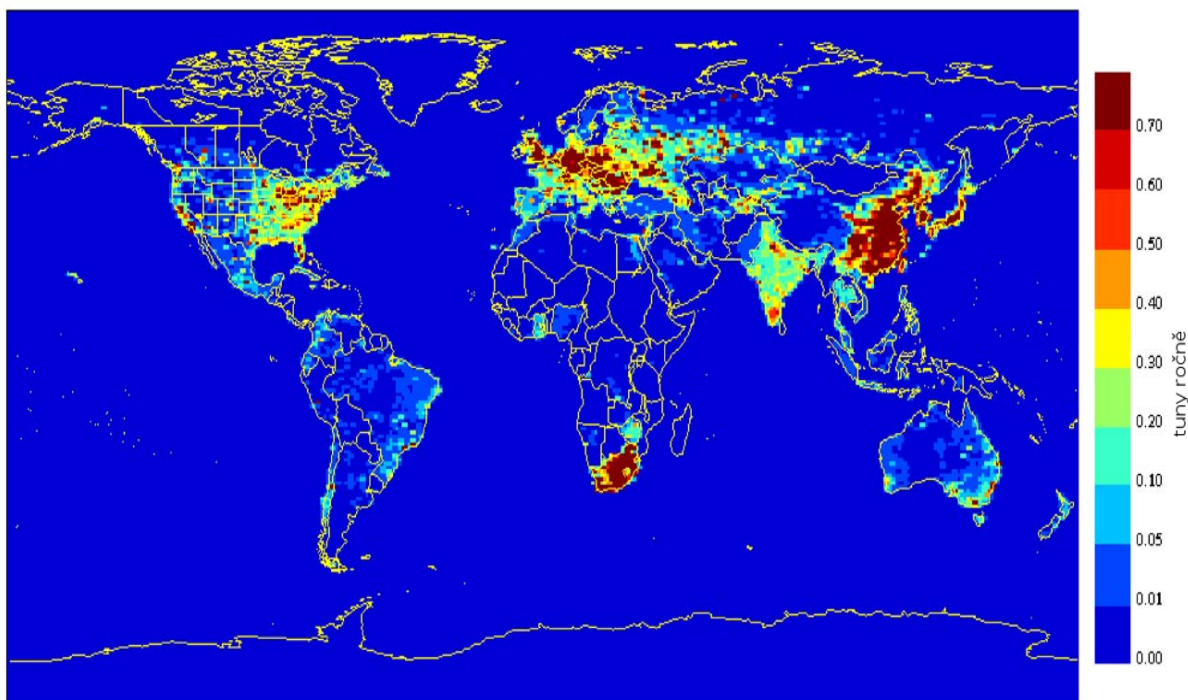
1.1.2.1 Přírodní zdroje rtuti

V přírodě se rtuť vyskytuje zhruba ve dvaceti minerálech, přičemž nejrozšířenější formou je rumělka (sulfid rtuťnatý). Největší naleziště této rudy se nachází na území Španělska, Itálie a Spojených států Amerických.

Mezi přírodní zdroje rtuti patří především vulkanická a geotermální činnost, požáry [5][6].

1.1.2.2 Antropogenní zdroje rtuti

Mezi antropogenní zdroje znečištění patří spalování uhlí a ropy, pyrometalurgické procesy a výroba zlata a rtuti. Tyto zdroje tvoří více než polovinu celkových globálních emisí rtuti. Produkce emisí rtuti se odvíjí od demografických a ekonomických faktorů a zákonných ustanovení v jednotlivých oblastech. Nejvyšší emise rtuti byly zaznamenány z Asie. Globální mapa emisí rtuti je znázorněna na obr. 1.2 [7][8].



Obr. 1.2: Světová mapa emisí rtuti [17].

Vysoký podíl na tvorbě emisí má automobilová doprava. Z hlediska obsahu rtuti v pohonných hmotách si nejhůře stojí LPG ($1230,3 \pm 23,5$ ng/l) vedle benzínu ($571,1 \pm 4,5$ ng/l) a nafty ($185,7 \pm 2,6$ ng/l). Všechna vozidla však emitují výlučně jen rtuť elementární, nikoliv oxidovanou formu [9].

V Evropě byl v roce 1995 celkový objem emisí rtuti odhadnut na 342 tun. Celkem z 25 % přispíval především ruský průmysl, následovala Ukrajina, Polsko, Německo, Rumunsko a Velká Británie. Spalování fosilních paliv využívané k výrobě elektřiny a tepla tvoří polovinu evropských emisí rtuti. Další současné zdroje znečištění představuje spalování odpadů, vodních kalů, průmyslových odpadů aj [10].

Celkem 80 % rtuti z celkové emise je uvolňováno do atmosféry. 15 % se ukládá do půdy formou hnojiv, pesticidů a komunálních odpadů (nizkotlaké rtuťové zářivky, autobaterie, teploměry). Zbýlé procento celkových emisí tvoří průmyslové odpadní vody [4][10].

Z těžby zlata amalgamovým způsobem se do životního prostředí uvolňuje až 800 tun rtuti ročně. Třetina skončí po odpaření v atmosféře a zbytek kontaminuje přilehlou půdu a vodní toky [11].

V Evropě se na emise rtuti zaměřuje Protokol o těžkých kovech k Úmluvě o dálkovém znečišťování ovzduší (CLRTAP = Convention on Long Range Transboundary Air Pollution). Ten je výhradně zaměřen na emise rtuti do ovzduší. V roce 2009 byla vyjednána nová mezinárodní úmluva, která má minimalizovat negativní dopad používání rtuti v širším měřítku.

1.2 Bio-chemický cyklus rtuti

V ekosystémech se mohou těžké kovy pohybovat specifickými cestami svých bio-chemických cyklů. Z těchto cyklů v různých momentech vystupují a kumulují se. Tato schopnost je velmi nebezpečná, neboť platí, že poškození organismu je přímo úměrné době, po kterou jsou ionty kovu v organismu přítomny [12].

Těžké kovy patří mezi přirozené složky zemské kůry. Prostřednictvím různých chemických a geologických procesů mohou vstupovat do vody i potravin. Rychlá urbanizace a rozvoj průmyslu v posledních letech vedly k ekologickým obavám, které se týkají zejména nevybíravého ukládání odpadů a vypouštění průmyslových odpadních vod, které obsahují těžké kovy [3][13].

1.2.1 Enviromentální hladiny celkové rtuti a methylrtuti

Koncentrace celkové rtuti v atmosféře se na severní polokouli pohybuje kolem hodnoty 2 ng/m³. V roce 1990 uvádí WHO na jižní polokouli poloviční koncentraci. Je známo, že v atmosféře převažují ze 75 % výpary elementární rtuti. 20 % tvoří methylrtuť a zbytek dvojmocné anorganické soli [14].

Přirozený obsah celkové rtuti v oceánu je 0,5–3 ng/l, v pobřežních vodách potom 2–15 ng/l, v řekách a jezerech je 1–3 ng/l. Specie rtuti ve vodách závisí na typu vodního ekosystému. V oceánech převažuje rtuť ve formě komplexů chloru. Koncentrace methylrtuti závisí na typu vodního ekosystému, nicméně ve sladkovodních ekosystémech se pohybuje v rozmezí 1–6 % [14].

1.2.2 Rtuť v atmosféře, terestrickém prostředí a vodním ekosystému

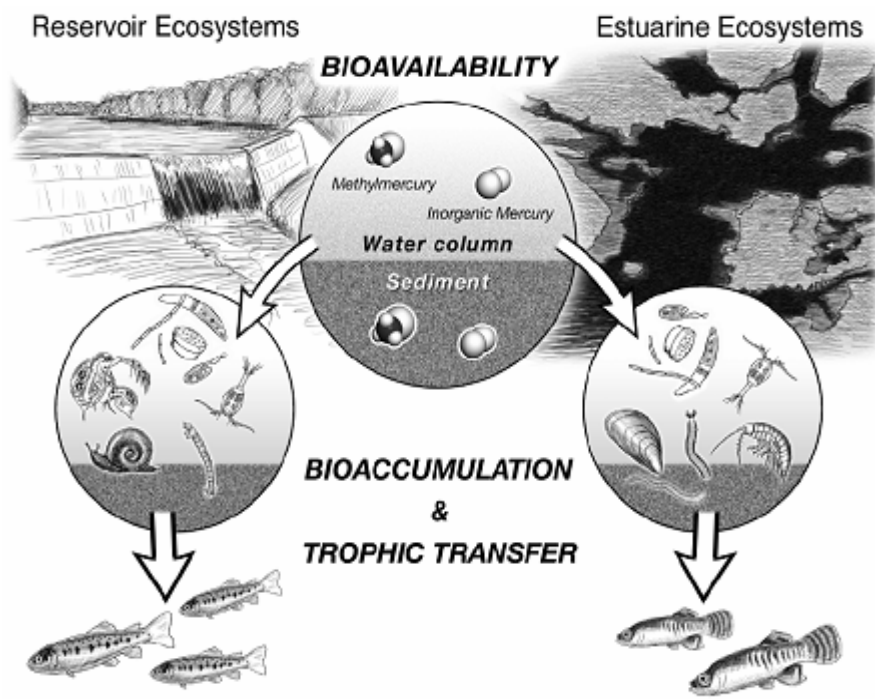
Bio-chemický cyklus zahrnuje všechny vstupy a výstupy sloučenin rtuti v daném ekosystému. Celkový cyklus představuje uvolnění elementární rtuti a nově vzniklých těžkých sloučenin rtuti (CH₃)₂Hg z půd, hornin, povrchových a odpadních vod (obr. 1.3).

Do tohoto přirozeného cyklu výrazně zasáhl člověk. Odhaduje se, že asi 2/3 z celkového množství rtuti v životním prostředí pochází z antropogenních zdrojů a pouze 1/3 z přírodních emisí [14][15].

Těkávé sloučeniny rtuti přecházejí do atmosféry. Emise jsou pomocí větru transportovány i na dlouhé vzdálenosti a následně deponovány mokrou či suchou cestou na zem či do povrchových vod. V poslední době se ukazuje, že největší zásobárnou rtuti je půda. Zde je rtuť vázána s huminovými látkami v komplexech, které jsou velmi stabilní. Průměrná koncentrace celkové rtuti v nekontaminovaných půdách se odhaduje na $0,02\text{--}0,2\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. V oblastech s vyšší produkcí emisí se koncentrace rtuti pohybuje řádově v jednotkách $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ [14][15][16].

V ojedinělých geochemických podmínkách nebo na místech, která leží v blízkosti nalezišť rtuti nebo v blízkosti významných antropogenních zdrojů kontaminace, je koncentrace všech forem rtuti v přírodních vodách velice nízká. V ČR se koncentrace v nekontaminovaných povrchových vodách pohybuje v desetinách až jednotkách $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$. Je to způsobeno převážně faktem, že přirozeně se vyskytující sloučeniny rtuti mají velmi nízkou rozpustnost ve vodě na rozdíl od komplexů s organickými a anorganickými ligandy [15].

Zejména ve vodním systému dochází k absorpci živou přírodou. Bioakumulaci methylrtuti ve vodních systémech ovlivňuje řada faktorů. Především se jedná o pH a teplotu vody, přítomnost bakteriální populace, množství rozpuštěné organické matrice, přítomnost komplexotvorných činidel, jako je sulfid, druh sedimentu a jeho eroze. Obsah methylrtuti ve sladkých vodách je obecně vyšší nežli ve vodách mořských. Tato skutečnost vyplývá z inhibice methylace nadbytkem sulfidu, nahromaděném v oblasti braktických ekosystémů, nebo z obecně nízké hladiny rozpuštěných organických látek v mořském ekosystému [14][15][18].



Obr. 1.3: Bio-chemický cyklus rtuti [19].

1.2.3 Biochemická alkylace rtuti

Nejdůležitější přeměnou rtuti z hlediska toxikologického je její biotransformace. Rtuť může být methylována některými mikroorganismy v určitém prostředí na monomethylrtuť, která může být dále transformována na dimethylrtuť. Methylrtuť představuje nejvyšší zastoupení ve vodních ekosystémech. V tkáních ryb tvoří methylrtuť 95 % celkového obsahu rtuti [14][18].

1.2.3.1 Methylační reakce

Objasnění procesu methylace je přisuzováno Challengerovi. Ten popsal kroky zahrnující přesun methylové skupiny CH_3 transmethylačním procesem z biologické molekuly k atomu kovu, který je akceptorem. Ve svém výzkumu používal sloučeniny trimethylarsenu a navrhl sérii biomethylace selenu, arsenu či telurů. Přesto přesný původ methylové skupiny nebyl objasněn. Později vědci objevili adici methioninu na enzym ledvin. Tento reakční mechanismus vedl k vytvoření S-adenosylmethioninu, univerzálního donoru methylové skupiny.

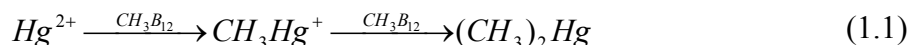
Challenger objasnil tento základní mechanismus bez použití enzymů. Nukleofilní atak atomu arsenu na methylovou skupinu způsobil přesun methylové skupiny z S-adenosylhomocysteinu k akceptoru [20].

Methylace rtuti probíhá za anaerobních i aerobních podmínek a je řízena aktivitou mikroorganismů. Tento děj je výrazně ovlivňován fyzikálně – chemickými parametry vodního ekosystému, jako je teplota vody, přítomnost světla, pH, koncentrace kyslíku ve vodě, pokud se jedná o aerobní methylaci. Methylrtuť je považována za nejtoxičtější formu, ze sedimentů se dostává do vody, vodních rostlin a dále potravním řetězcem až do vodních a vyšších organismů.

Methylace probíhá biotickým způsobem (v trávicím ústrojí ryb) i abiotickým způsobem.

1.2.3.1.1 Biotický způsob methylace

Biotický způsob methylace zahrnuje neenzymatickou methylaci rtuťnatých iontů methylkobalaminovými sloučeninami (CH_3B_{12}) v sedimentech za účasti především bakterií rodů *Desulfovibrio*, *Desulfuromonas* aj., které mají schopnost redukovat sulfáty. Reakci methylace rtuťnatých iontů popisuje rovnice (1.1).



Pro uvedené mikroorganismy představuje methylace detoxifikační mechanismus (pokud se vytvoří sloučenina dimethylrtuti, tak rtuť v této formě může snadno vytékat z bakteriální buňky do prostředí).

Methylrtuť může být demethylována a dále redukována na elementární rtuť. Redukce oxidovaných forem rtuti pomocí cytoplazmatické reduktázy na elementární rtuť je běžným detoxifikačním mechanismem. Zvyšuje se podstatně odolnost mikroorganismů vůči jedovatým Hg^{2+} . Elementární rtuť je snadno těkává a uvolní se tak do prostředí.

Redukce rtuti probíhá v aerobních podmínkách a není spojena se získáním energie. Tento mechanismus probíhá u aerobních a fakultativně anaerobních bakterií rodu *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Enterobacter* aj. Rychlost tvorby methylrtuti je také závislá na koncentraci methylkobalaminových sloučenin, koncentraci Hg^{2+} , množství a druhu mikroorganismu a přítomnosti anorganických a organických komplexotvorných látek. Méně často probíhá methylace v podmínkách enzymatických [1].

1.2.3.1.2 Abiotický způsob methylace

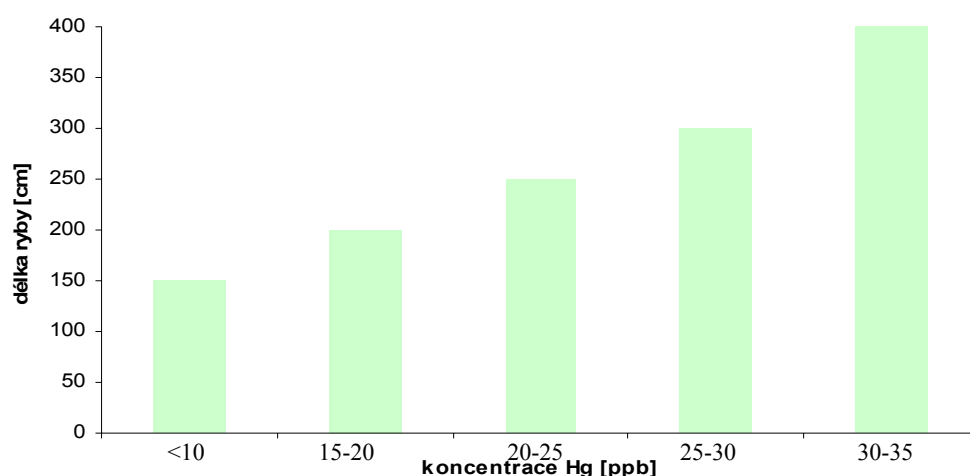
Abiotický způsob methylace zahrnuje 10 % z celkové produkce methylrtuti. Probíhá především v přítomnosti vyšší koncentrace huminových kyselin.

1.2.4 Bioakumulace rtuti v rybí tkáni

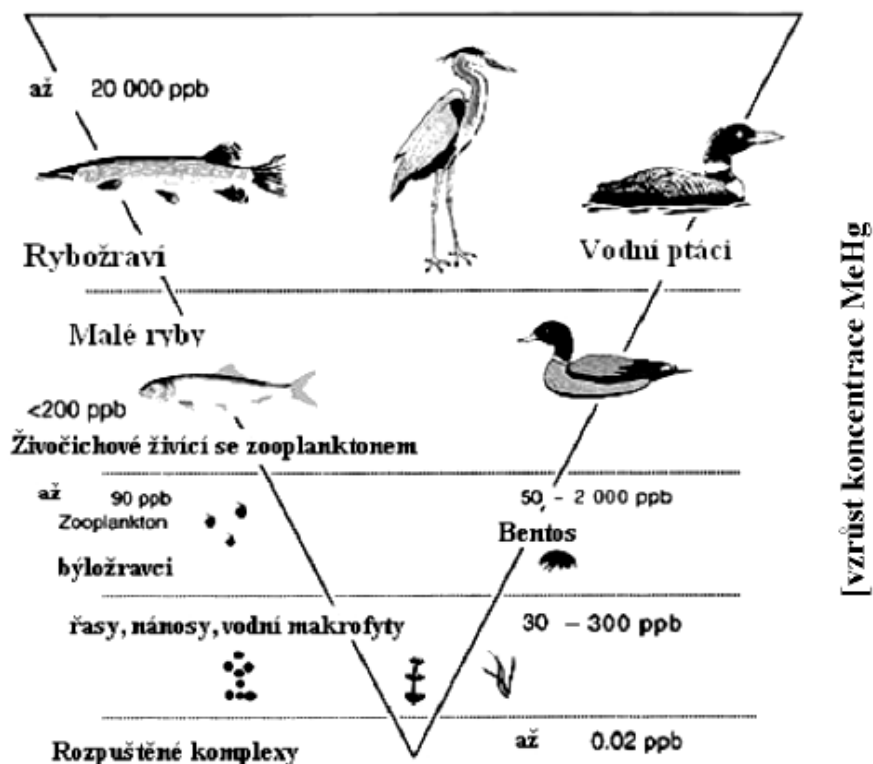
Bioakumulace byla nejintenzivněji studována na rybách a jiných vodních organismech. Téměř veškerá rtuť v rybí svalovině se nachází ve formě methylrtuti. Příjem methylrtuti z potravy tvoří 90 % jejího celkového příjmu u volně žijících ryb a tyto ryby asimilují 65 až 80 % z celkového obsahu methylrtuti v potravě.

Režim příjmu potravy ovlivňuje koncentraci methylrtuti ve střevech ryby. Methylrtuť distribuována potravou překročí střevní stěnu a naváže se na buňky červených krvinek. Ty ji transportují krevním řečištěm do všech orgánů a tkání, kde překračuje vnitřní membrány. Množství methylrtuti v krvi, slezině, játrech a ledvinách poklesne, pokud není ryba dále vystavena expozici methylrtuti z prostředí, protože velké množství methylrtuti je přemístěno do kosterních svalů. Zde se methylrtuť akumuluje navázáním na sulfurhydrylové skupiny proteinů.

V případě, že vodní ekosystém je vysoce kontaminován rozpuštěnou anorganickou rtutí, lze prokázat její přítomnost v rybí svalovině. Ryby asimilují anorganickou rtuť méně účinně nežli rtuť organickou. Pokud dojde k absorpci anorganické formy rtuti, dojde i k její rychlejší eliminaci z organismu než u formy organické. Příjem methylrtuti potravou a její následný obsah v rybí svalovině koreluje s dávkami kontaminované potravy, jejich velikostí a trofickou pozicí v potravní pyramidě (obr. 1.4, obr. 1.5). Vyšší koncentrace methylrtuti byly stanoveny v tkáních dravých ryb [20][14][18].



Obr. 1.4: Závislost množství přítomné rtuti v rybách na jejich velikosti [22].



Obr. 1.5: Postavení vodních organismů v potravní pyramidě [22].

1.2.4.1 Přestup sloučenin rtuti přes biologickou membránu

Příjem methylrtuti do živých organismů je uskutečněn dvěma biologickými systémy. První druh transportu zahrnuje přestup přes epitherální membránu, druhý přestup probíhá přes vnitřní buněčnou membránu. Methylrtuť, jenž představuje vyšší zdravotní riziko než-li elementární rtuť, je silně afinní k sulfohydrilovým skupinám. Nejdůležitějším krokem bioakumulace je fixace jednotlivých forem rtuti na membránu. Konkrétně se jedná o fixaci na proteiny a fosfolipidy. Molekuly vázající nebezpečné formy rtuti v membráně však neovlivňují přestup látek do buňky. Předpokládá se, že transport probíhá pouze jako rychlá difuze neutrálních molekul (HgCl_2^0 , CH_3HgCl). Tento proces difuze je stále předmětem zkoumání. Uvádí se, že nejvýznamnějším transportním mechanismem je glutathionový transportní systém, který slouží jako přenašeč molekuly rtuti přes biologickou membránu.

Obecně lze předpokládat, že přestup rtuti přes biologickou membránu je řízen silným elektrofilním atakem na SH-skupinu a zároveň možností tvorby neutrálních molekul s Cl^- a OH^- , které umožňují pasivní difuzi přes biologickou membránu [18].

1.3 Zdravotní rizika

Látky obsažené v potravě nemají pouze příznivé a požadované výživové vlastnosti, ale některé z těchto látek mají i vlastnosti škodlivé a nežádoucí. Chemické sloučeniny mohou mít tedy jak příznivé vlastnosti, tak vlastnosti toxické. Jaké vlastnosti se projeví, to závisí na okolnostech, za kterých působí, a způsobu, jak se látka do organismu dostane, na jejím množství, které organismus musí zpracovat (tzv. dávka), ale třeba i na stáří a druhu organismu – a to ne vždy stejně [23].

Je všeobecně známo, že po větší dávce je účinek větší. Dojde-li k otravě bezprostředně po masivní expozici, mluvíme o akutní otravě. Je-li poškození vyvoláno expozicí malými dávkami po dlouhou dobu (měsíce, roky), vyvíjí se onemocnění označované jako chronická intoxikace. Příznaky akutní a chronické intoxikace nebývají stejné [24].

Rtuť je přítomna ve všech složkách životního prostředí a z toho zákonitě vyplývá kontaminace v potravních řetězcích. Jednotlivé chemické formy se liší fyzikálními, chemickými a zejména toxikologickými vlastnostmi. Závisí na jejich množství, způsobu intoxikace a době expozice. Expoziční cesta rtuti je u lidí nejčastěji inhalační, orální a dermální. Samotná expozice se projevuje imunologickými, neurologickými, reprodukčními, vývojovými, genetoxickými a karcinogenními účinky a může končit i smrtí [23].

1.3.1 Toxikologie anorganických sloučenin rtuti

K otravám anorganickými sloučeninami rtuti a elementární rtuti dochází především v provozech chemického průmyslu a laboratořích. Elementární rtuť se vstřebává především plícemi, poněkud méně kůží.

Akutní intoxikace při požití rtuti se projevuje zvýšeným sliněním, ztrátou chuti k jídlu, bolestmi břicha, krvavými průjmy, kovovou chutí v ústech, záněty dutiny ústní a vypadáváním zubů. Kolem zubních krčků se vytváří šedivý lem, který je vytvořen vznikem HgS. Někdy se zvětšuje štítná žláza. Může dojít k úmrtí na následek kolapsu ledvin. Expozice parami rtuti vyvolává únavu, podrážděnost, nespavost, poruchy jemné motoriky, třesy končetin a poruchy paměti. Silné expozice mohou způsobit i smrt.

Anorganické sloučeniny rtuti jsou mírně toxické, přičemž sloučeniny jednomocné rtuti jsou méně toxické než sloučeniny dvojmocné rtuti, protože jsou méně rozpustné ve vodě a v kyselém prostředí.

Chronická intoxikace anorganickými sloučeninami rtuti má podobný průběh jako akutní, avšak objevují se některé nervové poruchy, mezi které patří nesoustředěnost, zapomnětlivost, poruchy zraku, sluchu a rovnováhy, nesrozumitelná řeč.

Elementární rtuť a sloučeniny rtuti jsou obsaženy ve vodních nádržích, kde jsou biologicky odbourávány na výše zmíněné organokovové sloučeniny, které jsou těkavé a rozpustné v tucích. Tyto vlastnosti přispívají k cestě potravinovým řetězcem až ke člověku [25][26].

1.3.2 Toxikologie organických sloučenin rtuti

Z hlediska toxikologie potravin je nejdůležitější sloučeninou methylrtuť, která má vliv na funkčnost enzymů. Existuje vysoká afinita k funkčním skupinám obsahujícím síru – proteinům obsahujícím síru. Také se váže na sérový albumin a hemoglobin, čímž jsou poškozovány krevní buňky. Nejvíce zasaženou tkání je však centrální nervový systém, speciálně potom mozková tkáň. Vazbou rtuti na buněčné membrány může dojít k inhibici transportu živin do buňky. Nedostatečný transport sacharidů do mozkové tkáně vede k energetickému deficitu. Současně se zvýšenou propustností draslíku způsobí poruchy přenosu vzruchu do mozku. Byly pozorovány neurologické symptomy, mezi které patří třes, rozdvojené vidění, zmatenost, náladovost a deprese [14][27][28][29].

Perorální příjem u člověka je nejdůležitější, neboť konzumace ryb a dalších potravin pocházejících z vodního ekosystému představuje nebezpečí otravy methylrtutí. Vstřebaná rtuť se zachycuje v játrech, ledvinách a mozku. Část rtuti z jater je vyloučena žlučí do střeva. Hlavní cesta eliminace organické rtuti z organismu je prostřednictvím výkalů. Nejvíce rtuti se hromadí ve vlasech a nehtech [25].

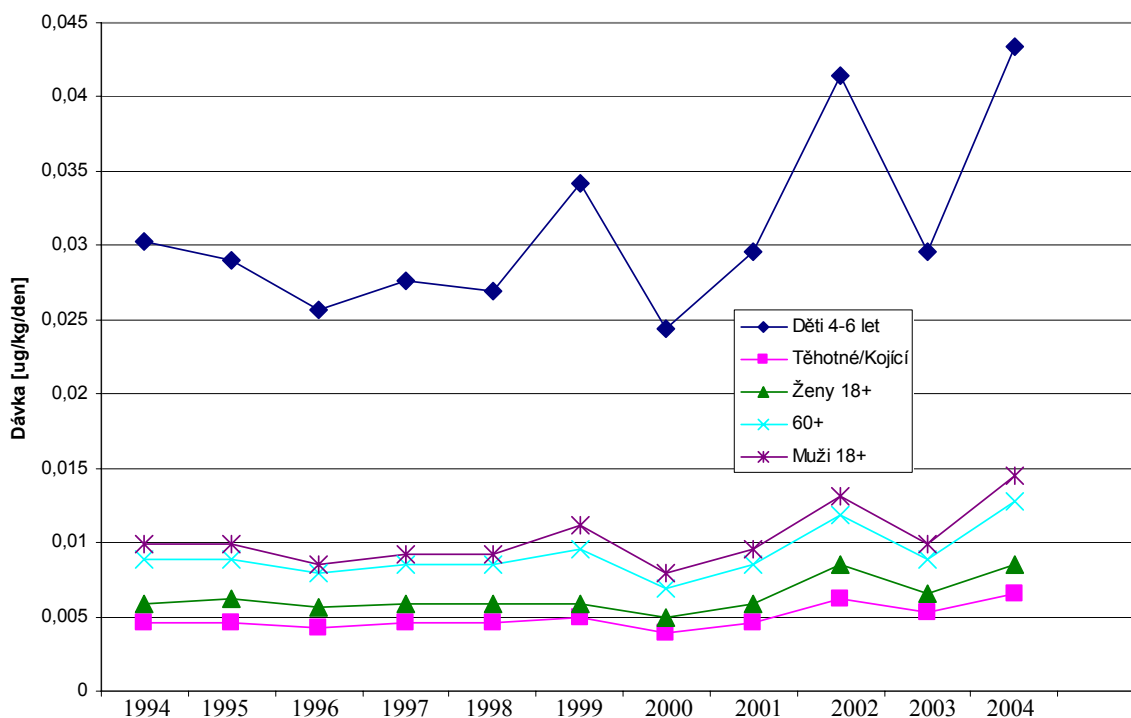
Z historie je známo několik závažných případů hromadných otrav. Za nejznámější lze považovat intoxikaci v japonském zálivu Miamata. V počátku roku 1950 došlo k masivní otravě methylrtutí. Primární cestou expozice byla konzumace kontaminovaných ryb a korýšů. Zdrojem kontaminace byla chemická továrna, jež vyráběla acetaldehyd. Aby byly splněny rostoucí požadavky na výrobu plastů v tehdejší době, bylo nutné zajistit odvod vedlejšího produktu – chloridu methylrtuti. Masivní výroba pokračovala do roku 1968. Rybolov nebyl v této oblasti omezen ani zakázán. Výsledkem chronické otravy byla těžká neurologické onemocnění [31].

1.4 Expoziční dávky

Expoziční dávka rtuti pro populaci nesignalizuje významná zdravotní rizika. Větší riziko představuje rtuť u spotřebitelů s preferencí ryb a rybích výrobků. Expoziční dávky v ČR jsou ovlivněny tím, že země nemá moře. Všechny mořské ryby a "mořské plody" jsou importovány z různých částí světa.

Tolerovatelná denní dávka celkové rtuti u dospělého člověka činí 50 μg a tolerovatelná denní dávka u methylrtuti 33 μg při tělesné hmotnosti 70 kg. Skutečné dietární dávky rtuti zjištěné ve studiích západních zemí se pohybují od 0,7 μg (Holandsko 1989) do 14 μg (Belgie 1983) [28].

Srovnání expozičních dávek v České republice bylo provedeno pomocí modelu doporučených látek potravin Státním zdravotním ústavem v Praze. Monitorování se provádí od roku 1994. Výsledky ukazuje obr. 1.6. Odhad zátěže populace rtutí má kolísavý trend, avšak v posledních letech mírně roste. Vyšší je expozice u dětí, avšak tato hodnota je stále tolerovatelná [32].



Obr. 1.6: Expoziční dávky rtuti pro různé věkové skupiny obyvatelstva [32].

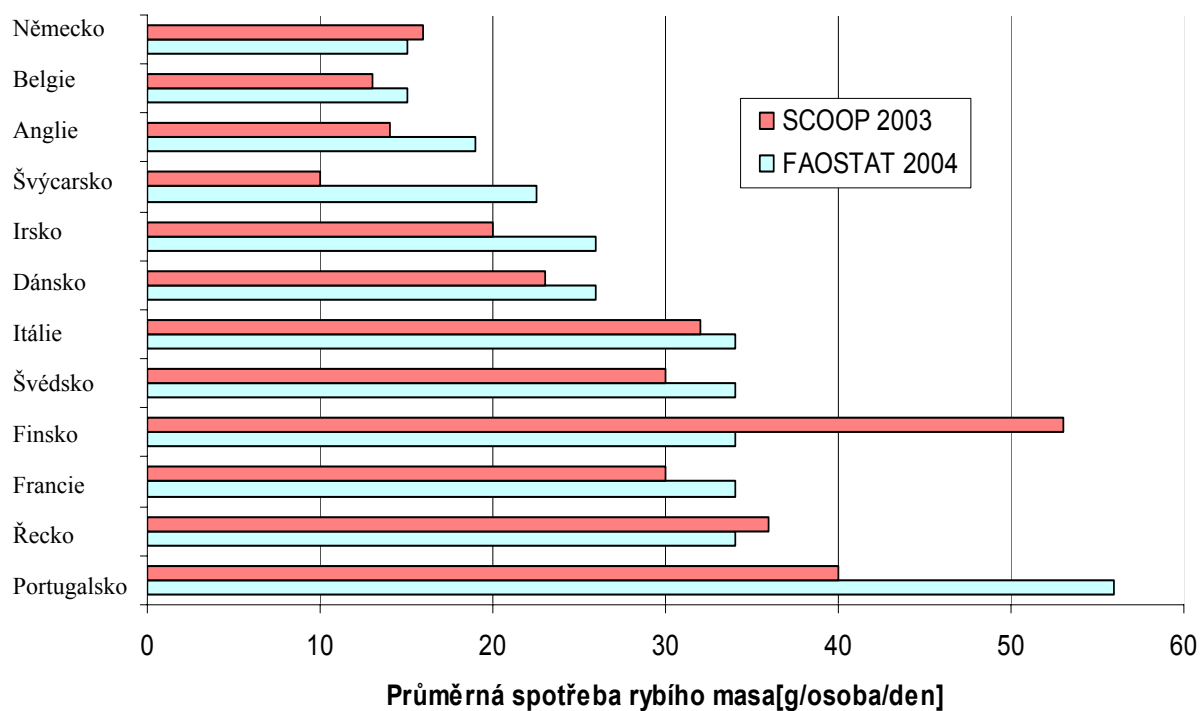
1.4.1 Odhad denního příjmu rtuti

Obvyklý denní příjem rtuti se pohybuje kolem 10 µg, přičemž 75 % tvoří anorganická kovová rtuť. Nejvyšší zdroj expozice představuje inhalace par rtuti z dentálních amalgámů, zbylých 25 % představuje organická rtuť. Zdroj tvoří konzumace ryb a rybích výrobků.

Aktuální referenční dávka udává odhadované množství denního příjmu dané látky, jenž může být konzumována celý život i citlivými skupinami obyvatelstva. V roce 1996 byla stanovena hodnota příjmu rtuti v potravinách na 0,1 µg/1 kg tělesné hmotnosti/den. V roce 2003 WHO přehodnotilo své stanovisko. Platná referenční dávka udává hodnotu 1,6 µg/1 kg/den [33].

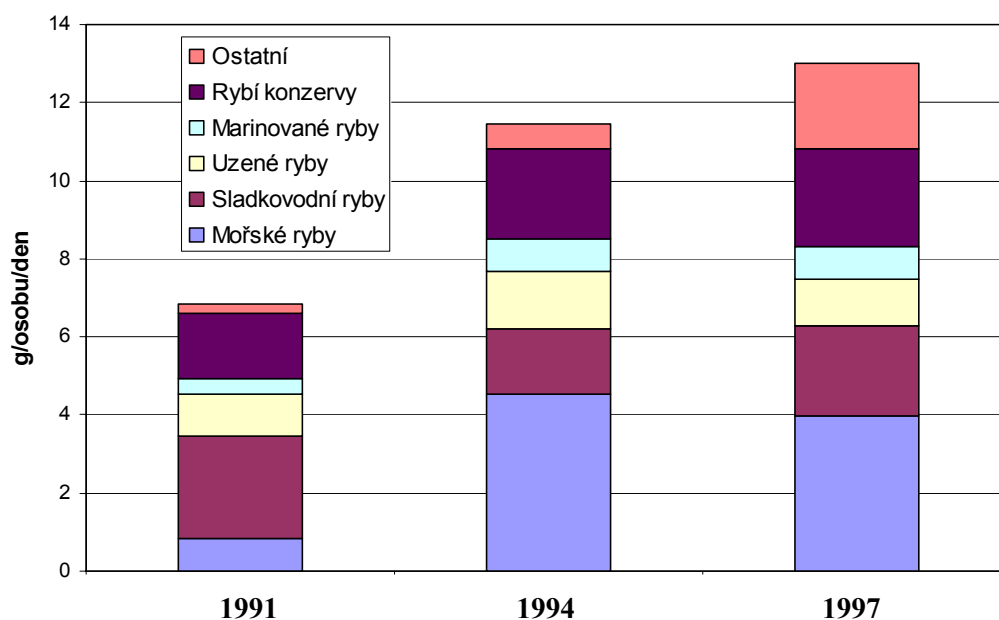
I přes udané limitní dávky jsou některé vládní agentury skeptické a vytvářejí různá doporučení zejména pro těhotné a kojící ženy a děti. Doporučují konzumaci druhů ryb, u nichž byl zjištěn nižší obsah organické rtuti. Prokazatelně nižší koncentrace rtuti se vyskytují v krevetách, lososech, sumcích. Naopak se nedoporučuje konzumace větších ryb, zejména mečounů a žraloků.

Dostupnost ryb ve světě (FAOSTAT, 2004) byla v roce 2001 odhadována na 85,5 miliónu tun. Největší dostupnost v dietě, přes 100 g/osobu/den, existuje v mnoha zemích, Evropu nevyjímaje (např. Norsko), (SCOOP, 2003). Uvádí se, že spotřeba ryb činí na Islandu 26,7 kg jedlého podílu/osobu/rok, což je podstatně více, než je průměr v západní Evropě a mnohonásobek spotřeby u nás. Rybářské sdružení ČR uvádí hodnotu spotřeby sladkovodních ryb na 1,37 kg/osobu/rok (3,75 g/osobu/den).



Obr. 1.7: Porovnání spotřeby ryb v Evropě podle SCOOP 2003 a FAOSTAT 2004 [33].

Celková spotřeba ryb v ČR činí 11 g jedlého podílu/osobu/den. U sportovních rybářů je tato hodnota samozřejmě vyšší. Obr. 1.8 uvádí odhad změn v konzumaci jednotlivých druhů ryb a rybích výrobků v ČR. Údaje zpracoval ČSÚ [33].



Obr. 1.8: Konzumace ryb a rybích výrobků v ČR (ČSÚ) [33].

1.4.2 Legislativní normy

Potraviny mohou obsahovat různé sloučeniny Hg. V ČR jsou stanovené limity rtuti v rybách uvedeny ve vyhlášce Ministerstva zdravotnictví č. 305/2004 Sb. Tato vyhláška uvádí pouze maximální limit celkové Hg, nikoliv MeHg. Této vyhlášce je nadřazeno nařízení Evropské komise (ES) č. 420/2011 ze dne 29. dubna 2011. To uvádí povolené maximum celkové rtuti 0.5 mg/kg pro rybí výrobky, s výjimkou vybraných druhů ryb, kde se akceptuje 1 mg/kg. V příloze diplomové práce je uvedena část nařízení týkající se limitů rtuti v konkrétních druzích ryb.

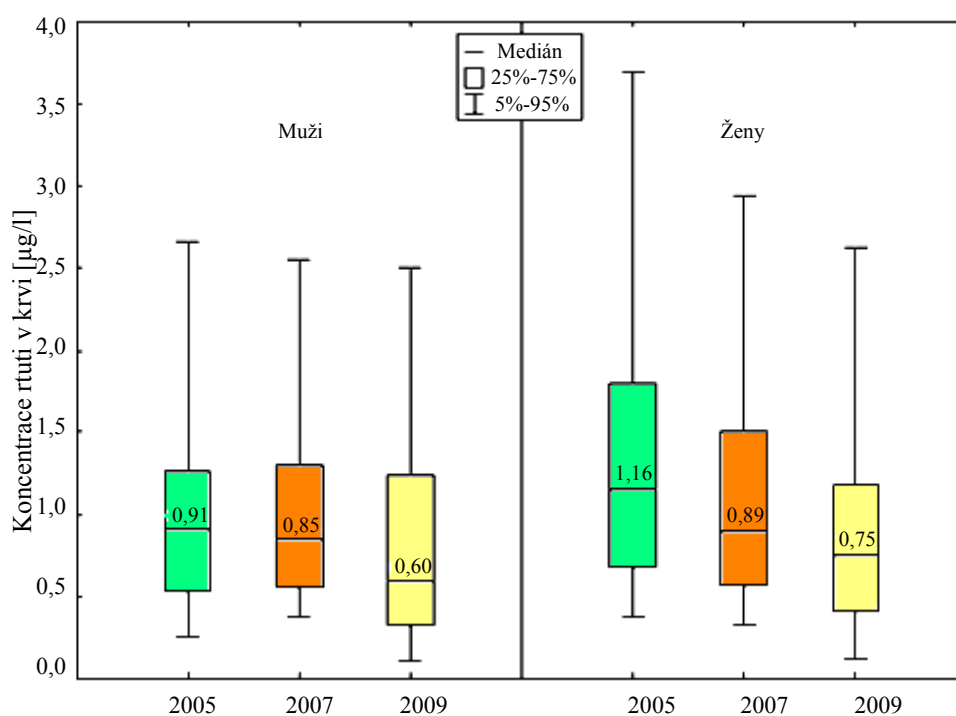
1.5 Biologické monitorování expozice rtutí

Pro posouzení expozice a z ní vyplývajícího možného rizika se využívají monitorovací programy zaměřené na expozici Hg/MeHg. Hlavní důvody pro monitorování jsou následující: příspěvek Hg/MeHg je rozhodující z ryb/rybích výrobků, další potraviny přispívají obvykle méně než 10 % k celkové expozici. Distribuce spotřeby ryb není pravděpodobně normálně rozložená, některé populační skupiny tak mohou být více exponovány. Vyšetřovaným biologickým materiálem je krev či vlasy [31][34].

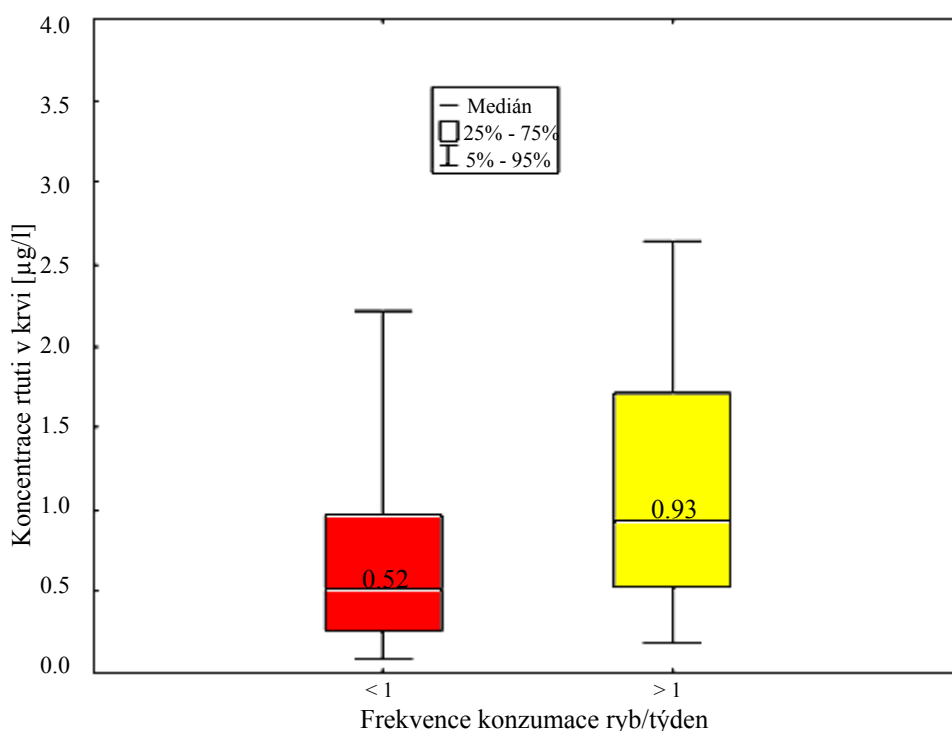
Koncentrace rtuti v krvi má úzký vztah především k organickým formám rtuti, jejichž zdrojem jsou zejména ryby. Referenční hodnoty pro dospělé osobu bez amalgámových výplní v SRN jsou 2 µg/l rtuti v krvi.

Státní zdravotní ústav vypracoval studii, která se zaměřuje na biologické monitorování rtuti z vnějšího prostředí. Tato odborná zpráva z roku 2009 sumarizuje dlouhodobý vliv rtuti na lidské zdraví.

Z vypracované studie vyplynulo, že vyšší mediánové koncentrace rtuti byly vysledovány v krvi dospělých žen. Výsledky uvádí obr. 1.9. Zdravotně významná hodnota pro obsah rtuti v krvi, tj. 5 µg/l, byla překročena u třech sledovaných osob. Zároveň byl zjištěn statisticky významný rozdíl v obsahu rtuti v krvi osob, které nekonzumují ryby vůbec a méně než 1krát týdně, a mezi těmi, které ryby konzumují 1krát týdně a více. Výsledky monitorování jsou shrnuty v obr. 1.10 [36].



Obr. 1.9: Koncentrace rtuti v krvi dospělých (2005, 2007 a 2009)[36].



Obr. 1.10: Koncentrace rtuti v krvi dospělých s různou preferencí ryb [36].

1.6 Stanovení rtuti v biologických matricích

Pro zjištění celkové koncentrace rtuti se v praxi využívá atomové absorpční spektrometrie a jejích modifikací.

Ke stanovení alkylderivátů rtuti, které představují vyšší zdravotní riziko, se používá tzv. speciální analýza. Speciální analýza ve srovnání s celkovým stanovením obsahu kovů s sebou nese zvýšené nároky jak na přípravu vzorku, tak i na samotnou analýzu, včetně nároků na sestavu analytické instrumentace.

Speciální analýza zahrnuje spojení separační techniky a selekční nebo neselektivní detekce. Vhodná analytická metoda závisí na koncentraci vzorku, původu a matici vzorku.

Biologické vzorky jsou natolik komplexní, že pouze výjimečně mohou být anorganické sloučeniny analyzovány přímo. Často je nezbytné oddělit sledované formy rtuti jak od interferujících složek vzorkové matrice, tak i navzájem od sebe. Teprve potom následuje samotné stanovení.

1.6.1 Odběr vzorků, předpříprava, uchování

Stanovení stopových koncentrací prvků v biologickém materiálu nezahrnuje pouze vlastní měření. Je třeba brát v úvahu i fázi odběru, skladování a přípravy vzorků, neboť tyto úkony zahrnují největší riziko kontaminace. Chyby vzniklé při manipulaci se vzorkem bývají často větší nežli chyby vzniklé při samotném měření. Proto je nutno dodržovat podmínky čisté laboratoře, nádob a chemikálií a úschovy vzorků. V neposlední řadě je nutno vzorek stabilizovat.

Rtut' vyskytující se v biologickém materiálu často bývá vázaná v těkavých organických sloučeninách. (methylrtuť, dimethylrtuť aj.). Je relativně vysoké nebezpečí ztrát při rozkladu vzorku. Proto se čerstvé vzorky ryb uskladňují hluboce zmrazené, lyofilizované v temnu nebo se někdy sterilizují [36][38].

1.6.1.1 Lyofilizace

Lyofilizace je sušící metodou. Jedná se o sušení při nízkém tlaku. Proti ostatním metodám sušení, které spočívají v odstraňování vlhkosti odpařením, tj. přechodem vody z fáze kapalné do plynné, je lyofilizace charakteristická odstraněním vody sublimací.

Proces vakuového vymrazování se skládá ze zmrazení, primárního sušení a sekundárního sušení vzorku rybí svaloviny. Je nutné připravit vhodné fyzikální podmínky. V rybí svalovině obsažená vlhkost je převedena zmrazením do tuhé fáze. K dosažení fáze primárního sušení je nutno snížit tlak a dodat potřebné teplo k započetí sublimace. Při následném sekundárním sušení probíhá desorpce nezmrzlých molekul vody na povrchu vzorku. Sušení probíhá pozvolna po dobu dvou dnů, aby nebyla narušena struktura biologického vzorku a zároveň byla odstraněna veškerá voda.

1.6.2 Metody stanovení chemických forem rtuti

Před samotným stanovením musí dojít k úpravě vzorku, jenž spočívá v homogenizaci. Homogenizát se rozkládá přidávkem zahřátých silných kyselin (HCl , H_2SO_4 , HNO_3) nebo oxidačními činidly v kyselém prostředí, např. H_2O_2 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, KMnO_4 , $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, KBr/KBrO_3 . Další možností oxidace je kombinace chemické oxidace s UV zářením.

Podle typu zvolené detekce je do upraveného vzorku přidáno redukční činidlo, jež uvolní ze směsi elementární rtuť. Samotné techniky pro stanovení rtuti v biologickém materiálu jsou si velmi podobné. K vlastnímu stanovení se nejčastěji používají metody atomové absorpční a emisní spektrometrie – atomová fluorescenční spektrometrie AFS, hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP-MS, optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP-OES, neutronová aktivační analýza NAA a anodická rozpouštěcí voltametrie ASV. Velmi dobré výsledky má také atomová absorpční spektrometrie s technikou generace studených par CV-AAS a atomová fluorescenční spektrometrie s technikou generace studených par CV-AFS [1].

Pro přímé stanovení koncentrace celkové rtuti bez potřeby chemické úpravy vzorku se v praxi využívá nejčastěji analyzátor Advanced Mercury Analyser AMA 254. Přístroj využívá generaci par rtuti a jejich záchyt (obohacení) na zlatém amalgátoru [40].

V současné době se pro stanovení různých forem rtuti využívají tzv. tandemové techniky. Nejčastěji se jedná o kombinaci výše uvedených metod s vysoce účinnou plynovou chromatografií (HPLC) či s plynovou chromatografií. Methylrtuť je obvykle analyzována pomocí GC. Methylrtuť je extrahována do organického rozpouštědla (obvykle benzen), re-extrahována do vodního roztoku cysteinu a extrahována zpět do organického rozpouštědla po okyselení. Methylrtuť v rozpouštědle je pak stanovena pomocí GC. Příklady některých dalších technik a jejich detekčních limitů uvádí tab. 1.1.

Tab. 1.1: Speciační analýzy jednotlivých forem rtuti a jejich detekce [41].

formy rtuti	separace	detekce	detekční limit ($\mu\text{g.l}^{-1}$)		
			Hg (II)	MeHg	Me ₂ Hg
Hg (II), MeHg	GC	ICP-MS	0,270	0,016	
Hg (II), MeHg, Me ₂ Hg	GC	MIP-AES	6,480	1,300	0,210
Hg (II), MeHg	HPLC	CV AFS	0,010	0,010	
Hg (II), MeHg	HPLC	ICP-MS	5,200	5,600	
Hg (II), MeHg	HPLC	CV-AAS	1,130	1,320	

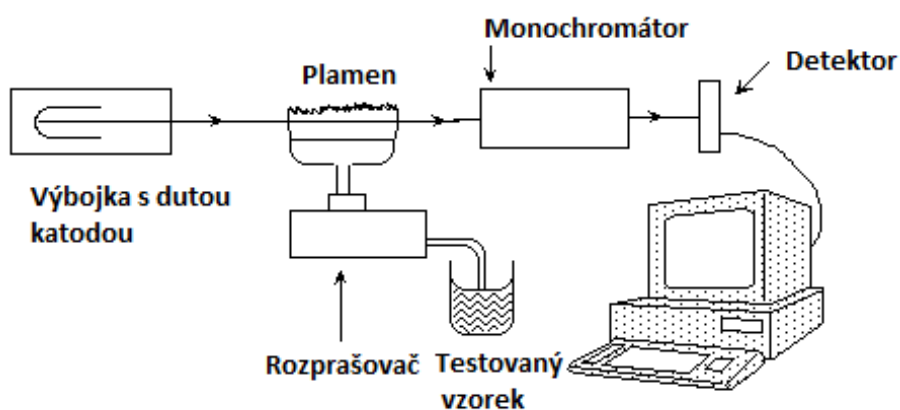
1.6.2.1 AAS

Podstatou metody je absorpce vhodného elektromagnetického záření volnými atomy v plynném stavu, které vznikají v atomizátorech. Volné atomy v plynném stavu absorbují fotony určité energie, záření o určité vlnové délce. Energetická hodnota fotonů je charakteristická pro určitý druh atomů a počet absorbovaných fotonů je mírou množství stanovovaných atomů.

Monochromatické záření vhodného zdroje je absorbováno volnými atomy stanovovaného prvku v základním stavu. Neabsorbované záření prochází monochromátorem, dopadá na fotonásobič a vzniklý proudový signál je po zesílení indikován elektrickým indikátorem, digitálním záznamem nebo registrován jako absorpce nebo absorbance. Vhodným rezervoárem atomů jsou plameny nebo elektrotermické atomizátory. Schéma AAS je uvedeno na obr. 1.11.

Pracuje se metodou kalibrační křivky nebo standardního přídatku. Pokud se ke stanovení používá elektrotermická atomizace, je jako míra obsahu prvku vyhodnocována výška přechodného signálu nebo plocha uzavřená pod křivkou v závislosti na čase.

Plamenová varianta AAS je vhodná pro stanovení velkého počtu prvků s různou citlivostí, po převedení vzorku do roztoku, s použitím různých typů plamenů. Pro stanovení Cd a Hg je vhodná směs propan (butan) – vzduch. AAS s použitím elektrotermické atomizace je vhodná pro velmi citlivé stanovení Hg. Atomizace se provádí metodou studených par. Atomizace v elektrotermickém atomizátoru odstraňuje nevýhodu silného zředění par analyzovaného vzorku spalnými plyny plamene a umožňuje relativně dlouhou dobu existence atomů po dobu analýzy [41][42].

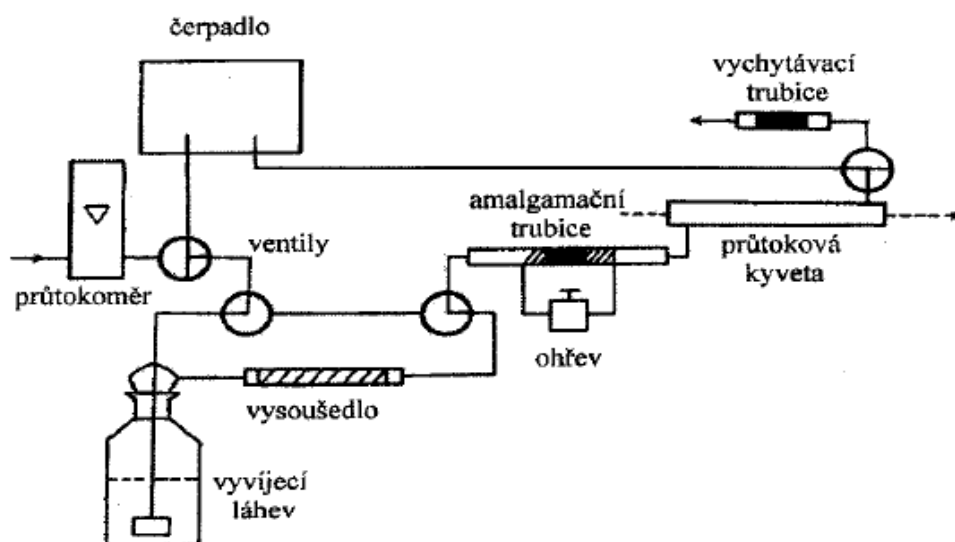


Obr. 1.11: Schéma AAS [43].

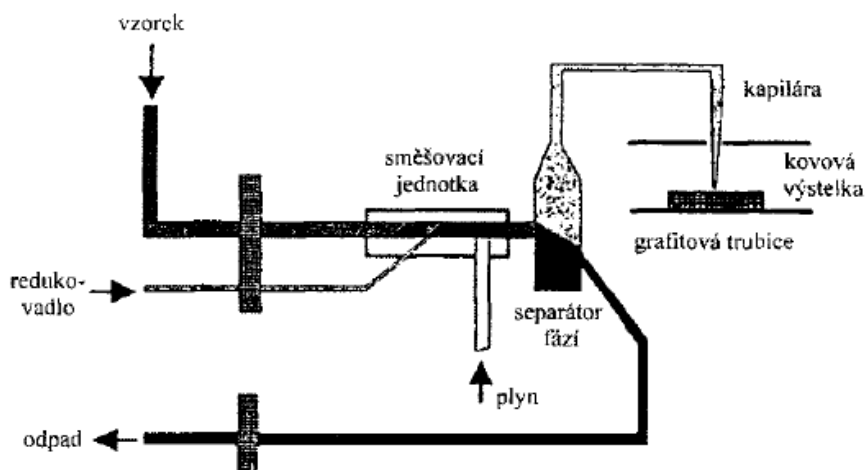
1.6.2.2 CV-AAS

CV-AAS je nejcitlivější a zároveň nejjednodušší technikou pro stanovení stopových a ultrastopových množství rtuti v biologických vzorcích.

Rtut' je jediný kov, který má za laboratorní teploty dostatečnou tenzi par (0,16 Pa při 20 °C). V AAS je monoatomická pára rtuti, získaná redukcí v roztoku, vedena proudem vzduchu, argonu nebo dusíku do absorpční průtokové trubice – kyvety, umístěné do cesty paprsku záření. Redukce Hg^{2+} nastává SnCl_2 v kyselém prostředí, formaldehydem v kyselém prostředí aj. Páry rtuti obsahují vodní páru, případně i kapičky vody, které je nutno odstranit ve vysoušedlech obsahujících nejčastěji $\text{Mg}(\text{ClO}_4)$. K zabránění kondenzace vody v absorpční kyvetě je možné kondenzát vyhřívat na 120 °C. Páry rtuti mohou v aparatuře cirkulovat nebo jednorázově projít kyvetou. Výsledkem je získání různých absorpčních signálů. Zkoncentrování par rtuti se dosáhne zachycením v kyselém roztoku KMnO_4 , zachycením na vrstvě aktivního uhlí, amalgací na Au, Ag, Pd, Pt (kov je ve formě drátků, kovové vaty aj.). Amalgace na Au, Ag (obr. 1.12) probíhá při teplotě 20 – 100 °C, uvolnění při teplotě 500 – 600 °C pro Au nebo 350 °C pro Ag. Stanovení ruší SO_3^{2-} , S^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Br^- , I^- , SCN^- , soli Pd, Pt, Au, Ag, Zn a Cu. Uspořádání aparatury může být dávkové, kontinuální anebo lze užít průtokový injekční (FI) systém (obr. 1.13) [44].

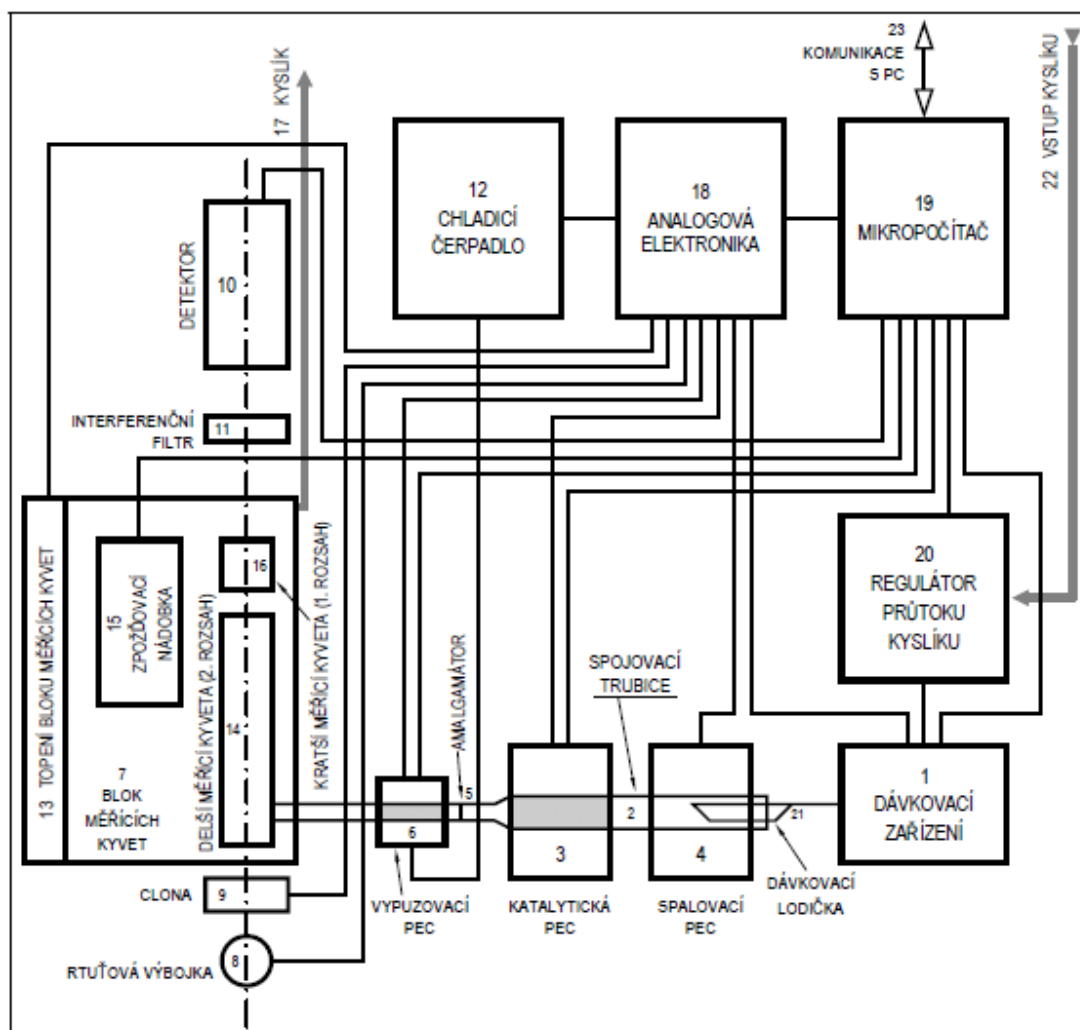


Obr. 1.12: Schéma generování studených par se zkoncentrováním v amalgamní trubici [44].



Obr. 1.13: Schéma FI systému generování studených par se zachycením v elektrotermickém atomizátoru [44].

Techniku generování studených par rtuti také využívá často používaný jednoúčelový spektrometr AMA 254. Přístroj je určen pro přímé stanovení množství rtuti v pevných a kapalných vzorcích bez potřeby chemické předúpravy vzorku. Vysoké citlivosti stanovení a nezávislosti výsledku stanovení na matici se dosahuje využitím techniky generování par (CV) kovové rtuti, která se zachytí a nabohatí na zlatém amalgamátoru. Jednoduché blokové schéma s podrobným popisem jednotlivých částí představuje obr. 1.14.

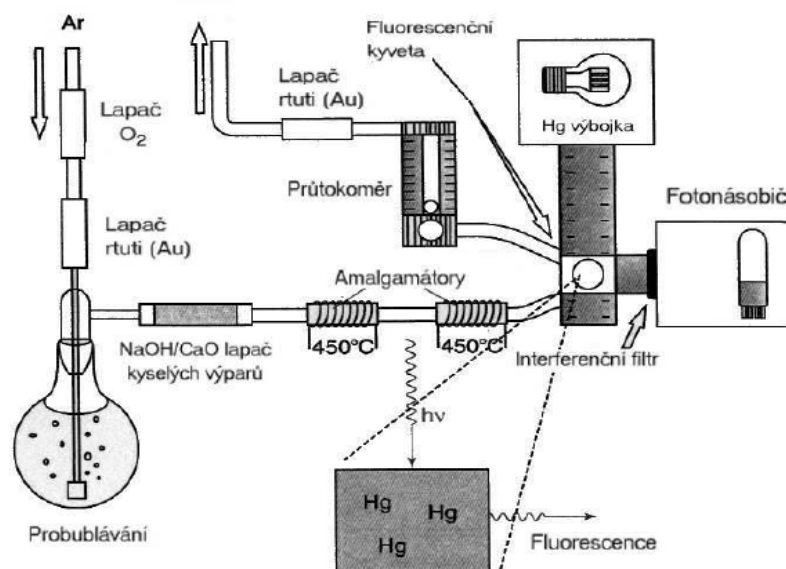


Obr. 1.14: Schéma AMA 254 [54].

1.6.2.3 AFS

Při absorpci kvanta elektromagnetického záření o vhodné energii dochází k excitaci elektronů ze základní na vyšší energetické hladiny. Absorpcí vzniklý excitovaný atom je nestabilní a deaktivuje se jednak nezářivými přechody, především srážkami s ostatními atomy, a v mnohem menší míře složitějším mechanismem vyzáření energie ve formě fotonu. Jev je popsán jako atomová fluorescence a je využívána atomovou fluorescenční spektrometrií (AFS).

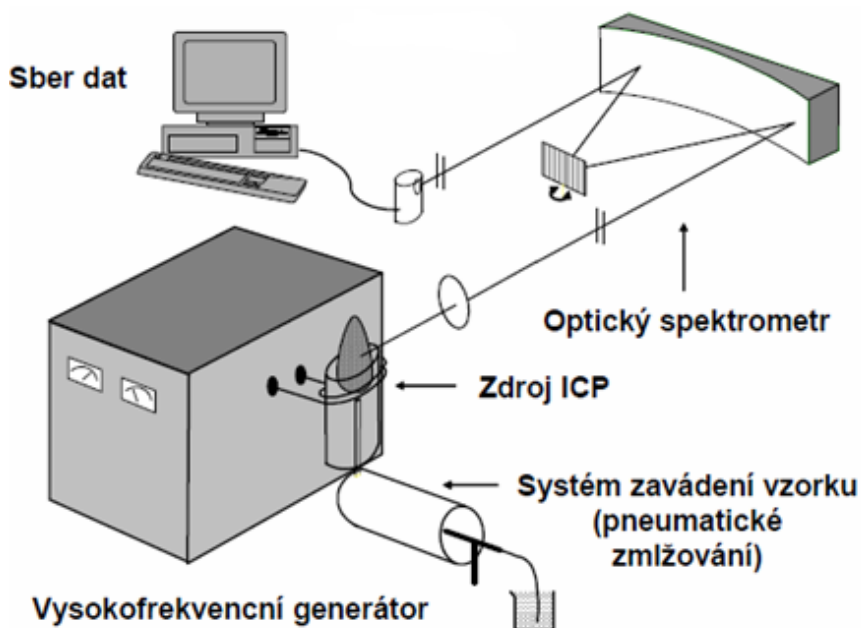
AFS ve spojení s metodou studených par (obr. 1.15) je v posledních letech často využívanou technikou pro stanovení rtuti v matricích, jako jsou biologické materiály, vody a půdy. Studené páry rtuti jsou generovány výše popsaným způsobem a vedeny do fluorescenční kyvety. Intenzita fluorescence je silně ovlivněna plynnými nečistotami, které mohou zhaset emisi rtuti.



Obr. 1.15: Schéma CV-AFS analyzátoru [44].

1.6.2.4 ICP-OES

Základní součástí přístroje je plazmový zdroj, který je tvořen radiofrekvenčním (RF) generátorem a indukční cívkou a plazmovým hořákem. Vzorek je peristaltickou pumpou nasáván do zmlžovače, kde je tvořen aerosol. Vstoupí-li aerosol do mlžné komory, větší kapky vzorku jsou odděleny a zbývající podíl je pak v toku argonu vnášen do plazmové hlavice. V indukčně vázaném plazmatu dochází k desolvataci aerosolu, tepelnému rozložení vzorku, který vede k jeho atomizaci, ionizaci a excitaci valenčních elektronů. Při přechodu elektronů z excitovaného stavu do základního stavu s nižší hladinou energie dochází k vyzáření emise záření, která je charakteristická pro daný analyzovaný prvek. Na základě polohy emisního záření lze posoudit kvalitativní složení prvků. Zároveň intenzita emise záření je úměrná obsahu sledovaného prvku ve vzorku [45][46].



Obr. 1.16: Schéma ICP-OES [41].

1.6.2.5 ICP-MS

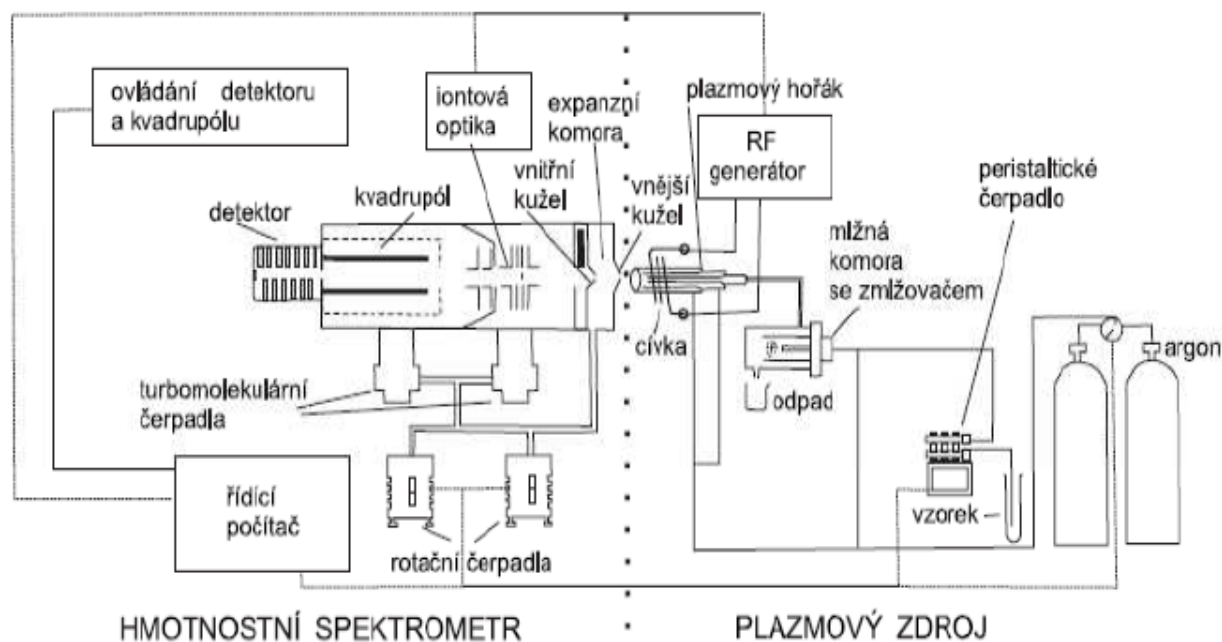
Tato metoda je aplikací hmotnostní spektrometrie. Vznikla kombinací hmotnostní spektrometrie s ionizací prvků v indukčně vázaném argonovém plazmatu. Schéma ICP-MS je uvedeno na obr. 1.17. Základní součásti přístroje tvoří plazmový zdroj, spojení neboli přechodnou část tvoří tzv. expanzní komora. Vlastní hmotnostní spektrometr je tvořený iontovou optikou, kvadrupólem a detektorem. Všechny tyto součásti, včetně expanzní komory, jsou výkonnými čerpadly zbavovány vzduchu, aby byl umožněn pohyb vznikajících iontů z plazmy do analyzátoru a zároveň aby částice vzduchu nerušily vlastní stanovení.

Plazmový zdroj je tvořen radiofrekvenčním generátorem a indukční cívkou, plazmovým hořákem, mlžnou komorou a zmlžovačem. V plazmovém hořáku vzniká díky radiofrekvenčnímu generátoru a indukční cívce v proudu argonu plazma. Vzorek je zaváděn do plazmatu buď v roztoku, nebo po předchozí elektrotermické atomizaci. Pomocí inertního plynu a zmlžovače je tvořen v mlžné komoře z kapalného vzorku aerosol, jehož jemná frakce se dostává do hořáku. Plazmový hořák je tvořen třemi koncentrickými křemennými trubicemi, kterými protéká různými rychlostmi argon. Vznik plazmatu je podmíněn fluktuacemi elektrického pole v prostředí indukční cívky. Oscilacemi v elektromagnetickém poli v prostředí argonu dochází ke kolizím jednotlivých částic, elektronů a iontů, které tvoří vlastní plazma. Průchodem aerosolu vzorku plazmatem vzniká pára, následně atomy a ionty, které jsou extrahovány úzkým hrdlem do hmotnostního spektrometru.

K separaci iontů dochází v elektrostatickém a radiofrekvenčním poli čtyřpólového hmotnostního filtru. Filtr propouští pouze ty ionty, které odpovídají svojí hmotností a nábojem nastavené rezonanci. Tyto ionty prošlé kvadrupólem dopadají na detektor a jejich signál je dále zesilován v elektronovém násobiči. Dopadem jednoho iontu zde vzniká kaskádový tok elektronů, který je zaznamenán jako výsledný signál a je dále zpracováván.

Mezi důležitá omezení náleží vlastnosti analyzovaného vzorku. Ten nesmí obsahovat velké koncentrace kyselin nebo velká množství solí, aby se zabránilo ovlivnění parametrů měření. Při měření velmi nízkých koncentrací je třeba neustále sledovat koncentrace analytu ve slepém pokusu.

Detekční limity vzhledem k ostatním spektrálním metodám jsou velmi nízké. I když jsou po mineralizaci tuhého vzorku brány v potaz interferenční vlivy, matriční efekty a změny ve stabilitě signálu přístroje, lze dosáhnout pomocí metody ICP-MS velmi dobrých výsledků. Detekční limity se u řady těžkých kovů v reálných podmínkách pohybují v ng.l^{-1} a řady ostatních v desetinách $\mu\text{g.l}^{-1}$ [45].

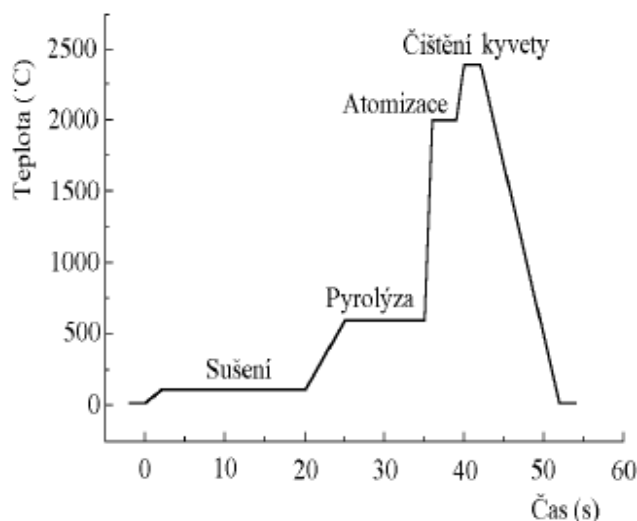


Obr. 1.17: Schéma ICP-MS [45].

1.6.2.6 ET-AAS s dávkováním pevných vzorků

Jako základní zařízení je využíván elektrotermický atomizátor. Atomizátor je z materiálu, jenž je elektricky vodivý a je schopen odolat vysoké teplotě. Jeho hlavní částí je trubice (kyveta), většinou grafitová, která je vyhřívána na požadovanou teplotu a do které se dávkuje vzorek. K zahřátí se využívá konvekčního, vodivého či zářivého procesu. Biologické vzorky se do kyvety dávkuje na tzv. platformu. V kyvetě je tak zachováno izotermické prostředí a nedochází tak k postupnému uvolňování analytu z matrice.

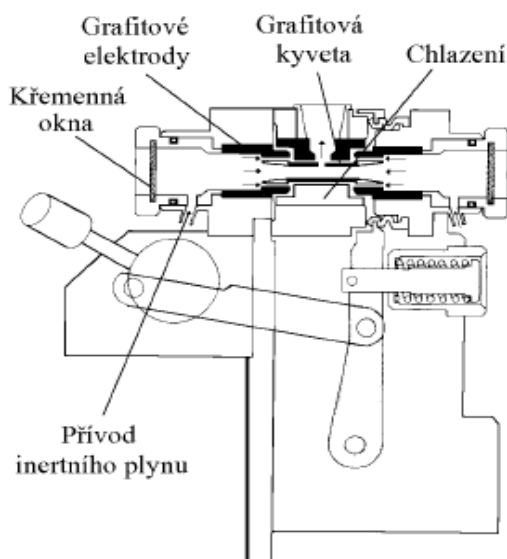
K atomizaci samotného vzorku dochází postupným ohřevem kyvety, kterou prochází elektrický proud. Vzorek je dávkován do kyvety standardně programovatelným dávkovačem a teplota kyvety je zvyšována v několika krocích, podle teplotního programu (obr. 1.18). Teplotní program je pro stanovení daného prvku v dané matrici vzorku individuální. Je potřeba optimalizace přístroje.



Obr. 1.18: Teplotní profil stanovení daného prvku pomocí metody ET-AAS [48].

Elektrotermický ohřev kyvety probíhá v atmosféře velmi čistého argonu, aby se zabránilo přístupu kyslíku ze vzduchu k rozžhavenému grafitu a volným atomům analytu. Na obr. 1.19 je znázorněno uložení kyvety v hlavici elektrotermického atomizátoru a jeho další nezbytné části.

ET-AAS je stále nejvyužívanější technikou pro prvkovou analýzu biologických materiálů. Její velkou výhodou je malá potřeba vzorku, což je důležité zejména při analýzách máloobjemových vzorků. Dalšími výhodami jsou citlivost, specifická, relativně vyšší tolerance k obsahu rozpuštěných solí oproti výše uvedeným metodám a v neposlední řadě i relativní cenová dostupnost. Nevýhodou ET-AAS je vyšší časová náročnost, menší rozsah lineární kalibrace a menší dynamický rozsah [47].



Obr. 1.19: Popis elektrotermického atomizátoru [48].

1.6.3 Studie celkové rtuti v rybí svalovině

V roce 2009 byla publikována studie, kterou zhotovila Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech. Tento projekt se zaměřil na kontrolu bezpečnosti potravin. Cílem projektu bylo sledování zatížení ryb vybranými toxickými látkami ve vybraných lokalitách a zhodnocení případných hygienických rizik pro jejich konzumenty – sportovní rybáře. V každé lokalitě bylo odloveno minimálně 5 kusů indikátorového druhu. Samotné stanovení celkové rtuti ve svalovině bylo provedeno metodou AAS na jednoúčelovém analyzátoru rtuti AMA 254. Z naměřených hodnot celkové koncentrace rtuti ve všech druzích ryb vyplynulo, že nebyl překročen hygienický limit [49].

Instituce FDA provedla v letech 1990–2004 monitorovací program Koncentrace rtuti v rybách. Ryby byly odloveny v Mexickém zálivu. Koncentrace celkové rtuti byla měřena pomocí CV-AAS. Z výsledků analýz vyplynulo, že ve větších rybách (žralok, mečoun) se vyskytuje srovnatelně vyšší množství rtuti než v menších druzích ryb [50].

Joanna Burger a Michael Gochfeld v roce 2005 zkoumali celkový obsah rtuti v šesti druzích ryb zakoupených v supermarketech v Chicagu. Analýza byla provedena pomocí metody CV-AAS (Portable Zeeman Lumex RA-915). U vzorků července obecné (*Hoplostethus atlanticus*) a mečouna byly zjištěny vysoké koncentrace rtuti [51].

V Brazílii použili pro stanovení celkové rtuti v rybách chronopotenciometrickou analýzu. Brazilská legislativa stanovuje obsah celkové rtuti pro všežravé ryby na 0,5 mg na kilogram rybí svaloviny, pro dravé ryby je horní hranice 1 mg/kg svaloviny. U téměř všech analyzovaných vzorků byla zjištěná koncentrace pod mezními hodnotami. Ve svalovině modrého žraloka (*Prionace glauca*) byla zjištěna vyšší koncentrace rtuti ($1.9 \pm 0.1 \text{ mg.kg}^{-1}$), než je povolené množství [52].

V roce 2011 byl na slovinském trhu proveden monitoring obsahu rtuti v čerstvých a konzervovaných rybách. Cílem bylo přispět k obecnému pochopení rizik a přínosů spojených s konzumací ryb a rybích produktů. Pro stanovení celkové rtuti byl použit atomový absorpční spektrometr s generací studených par. Správnost výsledků byla ověřena analýzou referenčního materiálu. V žádném z testovaných vzorků rybích konzerv nebyla překročena limitní hodnota. Pouze u dvou vzorků čerstvých ryb byla analyzována vyšší koncentrace celkové rtuti, než dovoluje nařízení EU. Tyto údaje naznačily, že konzervované rybí výrobky jsou více kontrolovány než čerstvé ryby. Získaná data pro celkovou rtuť byla porovnána podle trofické úrovně ryb. Nejvyšší koncentrace rtuti byly nalezeny u ryb, které jsou na vrcholu potravního řetězce (tuňák, mečoun, treska aj.) [53].

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Experimentální zařízení

Z analyzovaných vzorků byla odstraněna voda pomocí techniky vakuového vymrazování (obr. 2.2). Pro stanovení celkové rtuti v rybí tkáni byl využit analyzátor AMA 254 (Advanced Mercury Analyser) Altec, Praha. s obslužným softwarem WinAMA. Zmíněný analyzátor uvádí obr. 2.1. Pro statistické vyhodnocení bylo využito MS Excel 2003.



Obr. 2.1: Analyzátor AMA 254, Altec ČR



Obr. 2.2: Lyofilizátor, Labconco USA

2.2 Vzorky ryb a rybích produktů

Vzorek 1: Žralok modrý (*Prionace glauca*)

- Krajina původu: Španělsko



Obr. 2.3: Vzorek 1 (Žralok modrý).

Vzorek 2: Pangasius (*Pangasius hypophthalmus*)

- Krajina původu: Vietnam



Obr. 2.4: Vzorek 2 (*Pangasius*).

Vzorek 3: Krabí tyčinky

- Krajina původu: Litva



Obr. 2.5 : Vzorek 3 (Krabí tyčinky).

Vzorek 4: Pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*)

- Krajina původu: ČR,
Chlumec nad Cidlinou



Obr. 2.6: Vzorek 4 (Pstruh duhový).

Vzorek 5: Pražma modravá (*Spondyliosoma cantharus*)

- Krajina původu: Nizozemí



Obr. 2.7: Vzorek 5 (Pražma modravá).

Vzorek 6: Sardinky v rostlinném oleji (*Pilchardus walbaum*)

- Krajina původu: Maroko
- Dovozce: Hamé s.r.o.



Obr. 2.8: Vzorek 6
(Sardinka v rostlinném oleji).

Vzorek 7: Tuňák v rostlinném oleji

- Krajina původu: Papua – Nová Guinea
- Dovozce: Hamé, s.r.o.



Obr. 2.9: Vzorek 7
(Tuňák v rostlinném oleji).

Vzorek 8: Tresčí játra

- Krajina původu: Island
- Dovozce: Gastron, spol. s r.o.



Obr. 2.10: Vzorek 8 (Tresčí játra).

Vzorek 9: Uzená makrela (*Scomber scombrus*)

- Krajina původu: Polsko



Obr. 2.11: Vzorek 9 (Uzená makrela).

Vzorek 10: Uzené šproty (*Sprattus balticus*)

- Krajina původu: Estonsko
- Dovozce: Gastron, spol. s r.o.



Obr. 2.12: Vzorek 10 (Uzené šproty).

Vzorek 11: Sledí filety (*Clupea harengus*)

- Krajina původu: Polsko
- Dovozce: Nekton-Vrňata, s.r.o.



Obr. 2.13: Vzorek 11 (Sledí filety).

Vzorek 12: Tolstolobik bílý (*Hypophthalmichthys molitrix*)

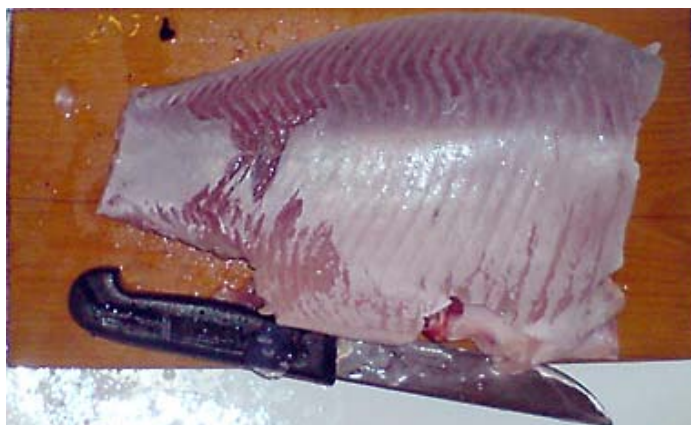
- Krajina původu: ČR



Obr. 2.14: Vzorek 12 (Tolstolobik bílý).

Vzorek 13: Kapr obecný (*Cyprinus Carpio*).

- Krajina původu: ČR



Obr. 2.15: Vzorek 13 (Kapr obecný).

Vzorek 14: Uzený losos

- Krajina původu: Norsko
- Dovozce: Almar sp. zoo, Polsko



Obr. 2.16: Vzorek 14 (Uzený losos).

2.3 Pracovní postupy

Zpracování ryb a rybích produktů

Vzorky 1–14 reprezentující běžný spotřební koš byly zakoupeny v supermarketech. Ryby byly rozmrazeny, vykuchány a byla oddělena svalová tkáň od kůže. Z rybích konzerv byl slit olej. Svalová tkáň byla rozřezána na plátky. Plátky jednotlivých vzorků byly umístěny do speciálních nádob určených do lyofilizátoru Labconco, Missouri USA (obr. 2.17).



Obr. 2.17: Zpracované vzorky určené k lyofilizaci.

Zlyofilizované vzorky (obr. 2.18, obr. 2.19) byly analyzovány pomocí jednoúčelového atomového analyzátoru AMA 254.



Obr. 2.18: Zlyofilizované vzorky připravené k analýze.



Obr. 2.19: Zlyofilizované vzorky připravené k analýze.

2.3.2 Analýza vzorků na spektrometru

Po vyčištění analyzátoru bylo 25krát proměřeno tzv. slepé stanovení (blank). Z naměřených hodnot byl poté vypočítán limit detekce pro stanovení rtuti (viz 2.3.3 Statistické zpracování výsledků). Přístroj AMA 254 je automaticky kalibrován od výrobce. Kalibrace je před každým měřením ověřována pomocí tzv. check standardu nebo pomocí analýzy certifikovaného materiálu. V této práci byla kontrola kalibrace prováděna pomocí standardu o koncentraci 0,2 mg/l Hg. Po opětovném přečištění byly postupně analyzovány všechny zpracované vzorky. Vzorky o hmotnosti 100 mg byly dávkovány na vypálenou lodičku, která byla automaticky vkládána do analyzátoru AMA 254. Ve spalovací trubici byly jednotlivé vzorky 60 s sušeny a poté termicky rozloženy v proudu kyslíku. Doba rozkladu byla 150 s. Produkty vzniklé rozkladem byly odstraněny na filtru a rtuť byla zachycena na amalgamátoru. Zachycená rtuť byla z amalgamátoru elektrotermicky uvolněna a páry rtuti byly nosným plynem do kyvety, kde byla naměřena absorpce záření o vlnové délce 253,65 nm.

Tab. 2.1: Technické údaje AMA 254 [54].

Zdroj záření	nízkotlaká rtuťová výbojka
Vlnová délka	253,65 nm
Interferenční filtr	254 nm, pološířka 9 nm
Detektor	křemíková UV dioda
Nosný plyn, průtok	O ₂ , 200 ml/min

2.3.3 Statistické zpracování výsledků

Při hodnocení analytických metod a výsledků byly použity matematicko – statistické metody. Z naměřených dat byla vypočtena hodnota směrodatné odchylky, relativní směrodatné odchylky a interval spolehlivosti.

Bylo provedeno 6 paralelních stanovení pro každý reálný vzorek ($n = 6$).

- Směrodatná odchylka (Sd) – vyjadřuje míru přesnosti série paralelních stanovení

$$Sd = k_n \cdot R, \quad (2.1)$$

kde k_n je koeficient, který je pro jednotlivá n tabelován, R je variační rozpětí.

- Relativní směrodatná odchylka (Rsd) – udává přesnost analýzy

$$Rsd = \left(\frac{s}{\bar{x}} \right) \cdot 100 [\%], \quad (2.2)$$

kde s je směrodatná odchylka, \bar{x} je průměr z n měření.

- Interval spolehlivosti (IS) – podle Dien-Dixona

$$IS = \tilde{x} \pm K_a \cdot R, \quad (2.3)$$

kde K_a je kritická hodnota Lordova rozdělení pro jednotlivé hladiny významnosti a počet měření \tilde{x} je hodnota mediánu.

Získané výsledky byly dále testovány zda-li soubor dat neobsahuje odlehlé hodnoty.

- Test odlehlosti výsledků – podle Dien-Dixona

Testují se dva sousední výsledky v posloupnosti hodnot podle vzorce:

$$Q_1 = \frac{x_2 - x_1}{R} \quad (2.4)$$

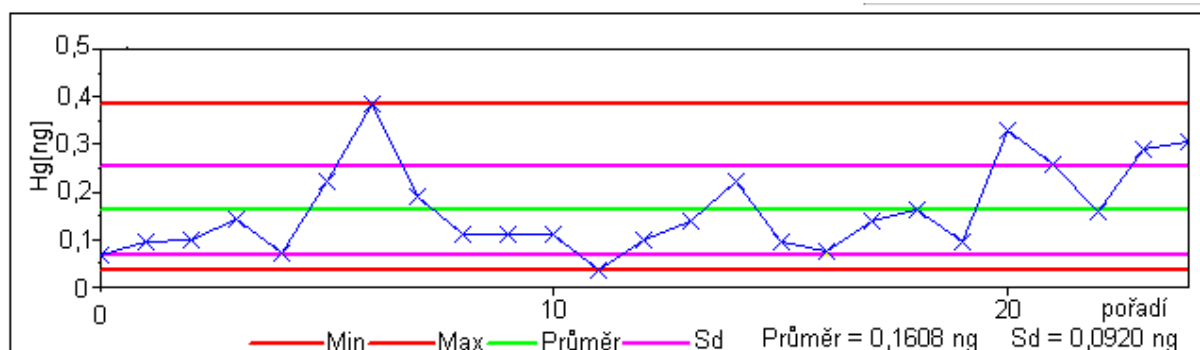
$$Q_n = \frac{x_n - x_{n-1}}{R} \quad (2.5)$$

Vypočtené hodnoty byly porovnány s kritickou hodnotou $Q_{6, \alpha} = 0,560$ pro zvolenou hladinu významnosti $\alpha = 0,05$. V žádném z naměřených 14 souborů nebyl nalezen odlehlý výsledek.

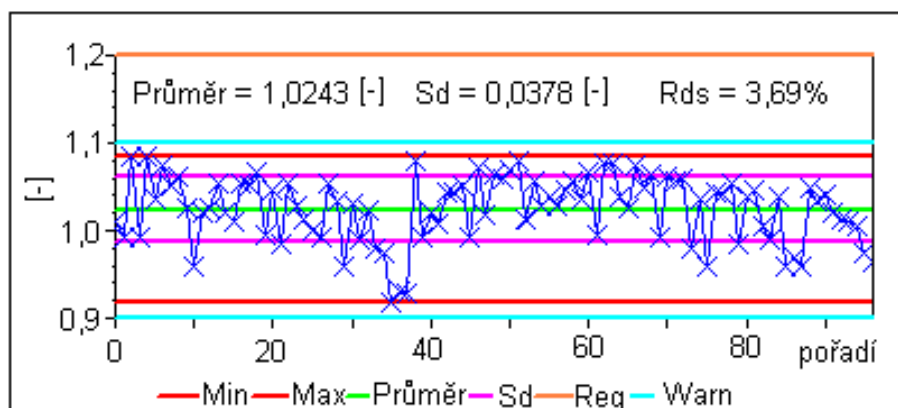
3 VÝSLEDKY A DISKUSE

3.1 Nastavení spektrometru AMA 254

Z naměřených hodnot (obr. 3.1) slepého pokusu byl vypočten limit detekce $LOD = 0,28 \text{ ng Hg}$. LOD byl dostačující pro analýzu všech vzorků. Celkové množství rtuti v analyzovaném materiálu se pohybovalo od 1 ng do 220 ng. Při ověření kalibrace přístroje a správného chodu přístroje nebyl během měření zaznamenán žádný problém. Koncentrace rtuti v check standardu (obr. 3.4) byla stanovena přesně s odchylkou menší než 5 %.



Obr. 3.1: Sumář výsledků slepých pokusů AMA 254 pro stanovení Hg.

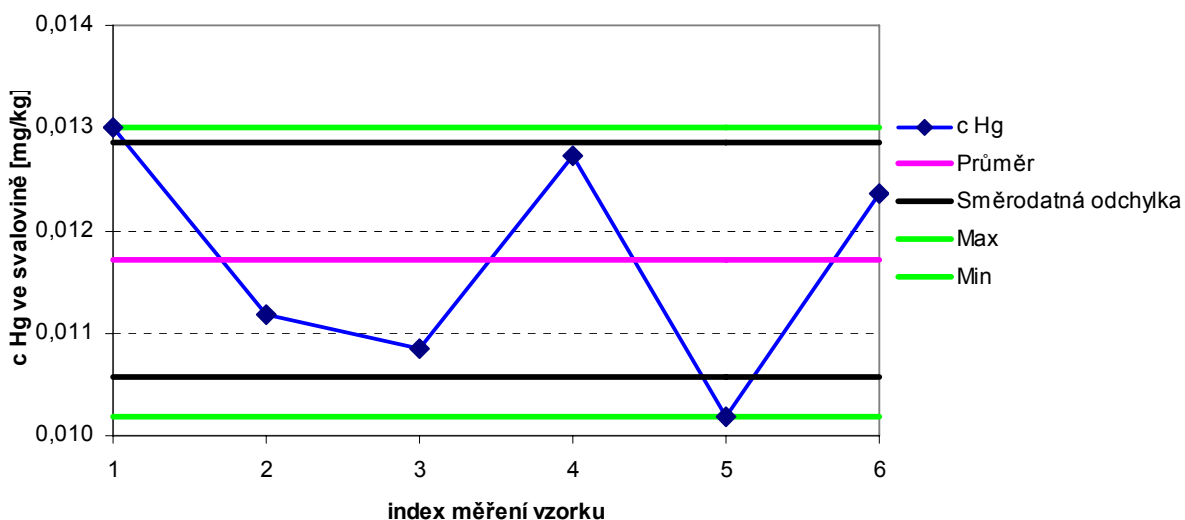


Obr. 3.2: Sumář výsledků měření check standardů AMA 254.

3.2 Analýza vzorků ryb a rybích produktů

Software WinAMA automaticky vyhodnotil naměřené hodnoty koncentrace rtuti v rybí svalovině. Naměřené výsledky dále byly zpracovány v MS Excel 2003.

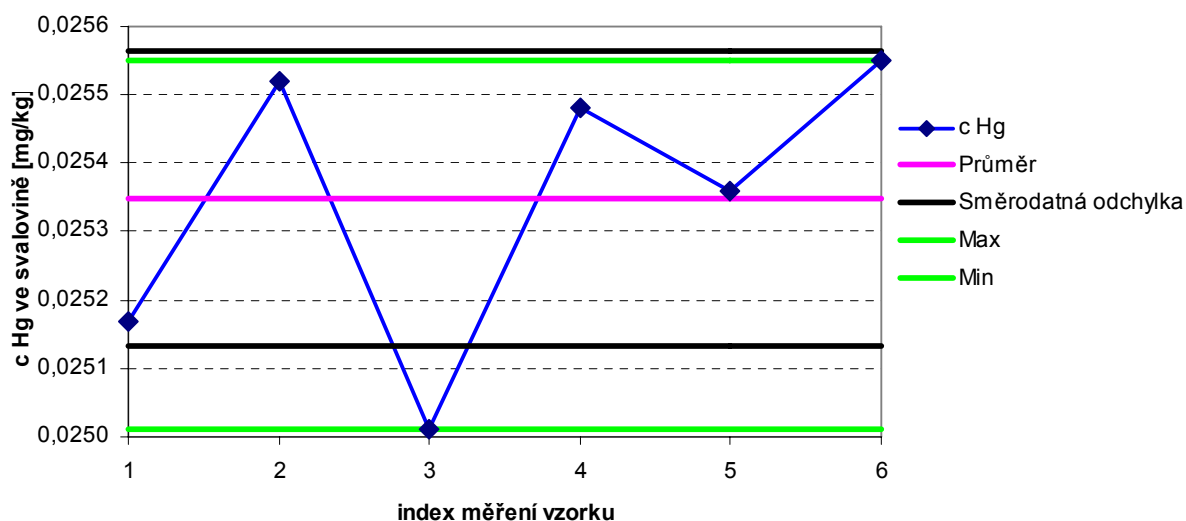
3.2.1 Pangasius



Obr. 3.3: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 2 (Pangasius).

U vzorku pangasia byla naměřena koncentrace $12,0 \pm 1,1 \mu\text{g/kg}$ Hg. Koncentrace rtuti byla nejnižší ze všech měřených vzorků, což lze vysvětlit tím, že ryba pochází z kontrolovaného chovu a není odchycena z reálného systému přírodních vod.

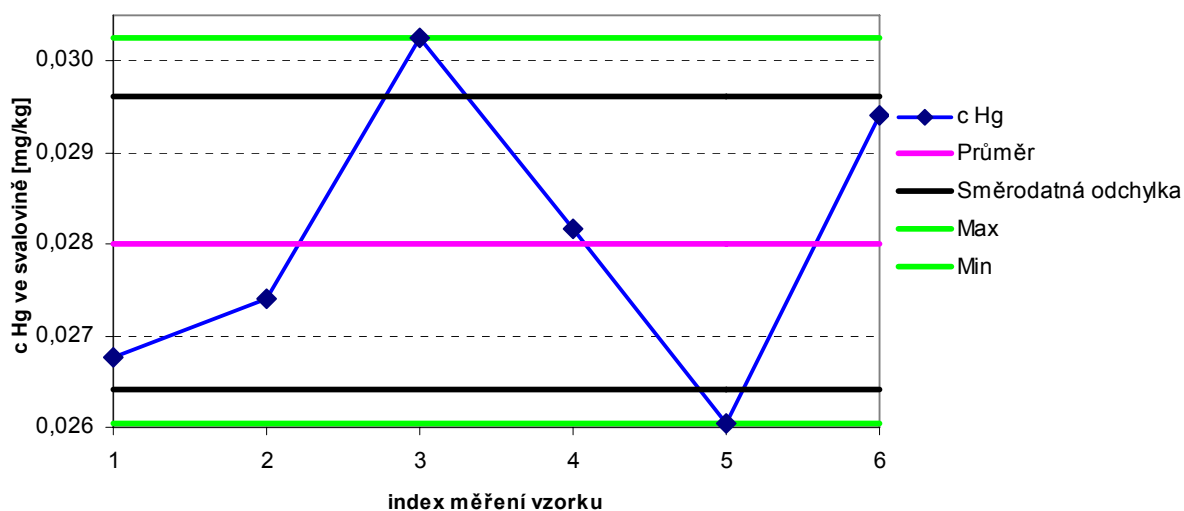
3.2.2 Krabí tyčinky



Obr. 3.4: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 3 (Krabí tyčinky).

U vzorku krabích tyčinek byla naměřena relativně nízká koncentrace rtuti. ($25,00 \pm 0,21 \mu\text{g/kg}$). Nízká koncentrace rtuti pravděpodobně souvisí se složením rybího produktu. Zakoupený výrobek byl složen z 50% podílu masa z tresky pestré. Zbytek výrobku byl tvořen škroby a barvivy.

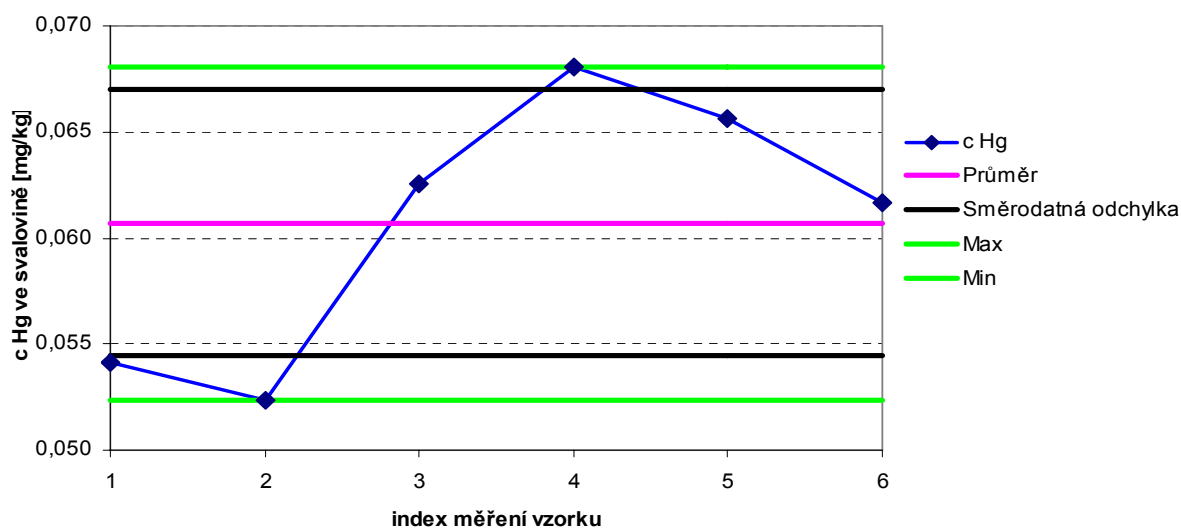
3.2.3 Sardinky v rostlinném oleji



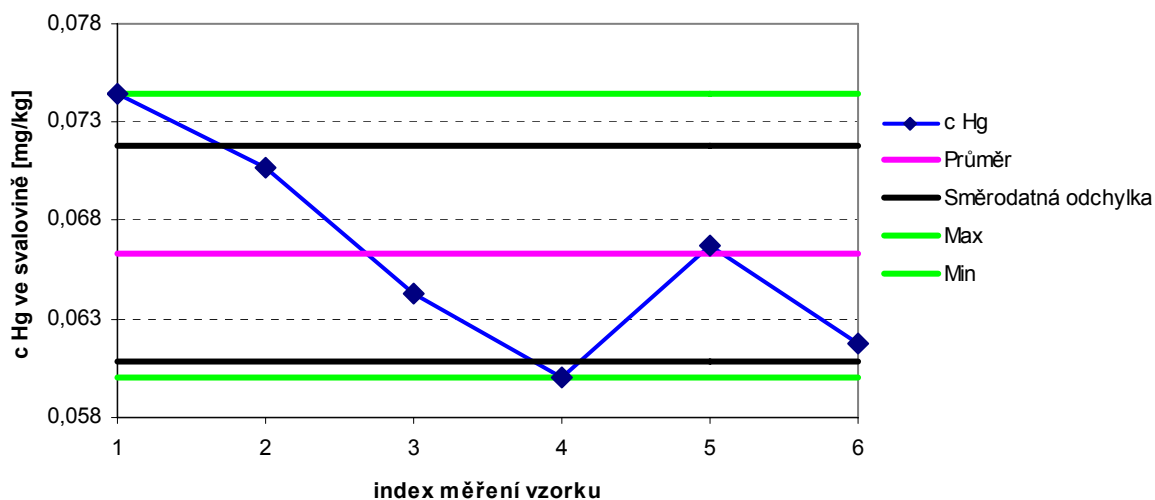
Obr. 3.5: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 6 (Sardinky v rostlinném).

U vzorku sardinek v rostlinném oleji byla stanovena koncentrace rtuti $28,0 \pm 1,6 \mu\text{g/kg}$. Poměrně nízká hodnota koncentrace rtuti koreluje s velikostí ryby (viz. obr. 1.4)

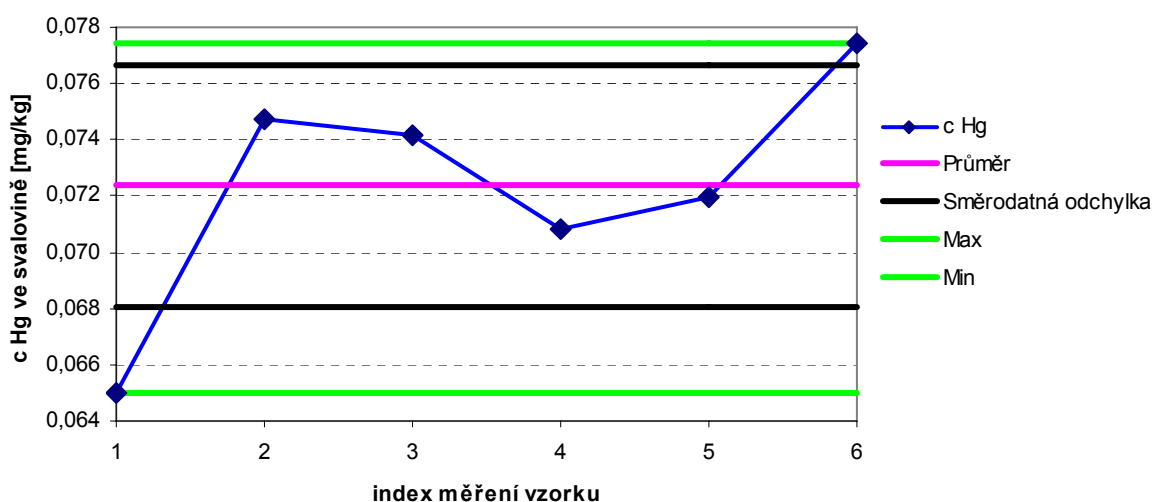
3.2.4 Uzený losos, uzené šproty, uzená makrela



Obr. 3.6: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 14 (Uzený losos).



Obr. 3.7: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 10 (Uzené šproty).



Obr. 3.8: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 9 (Uzená makrela).

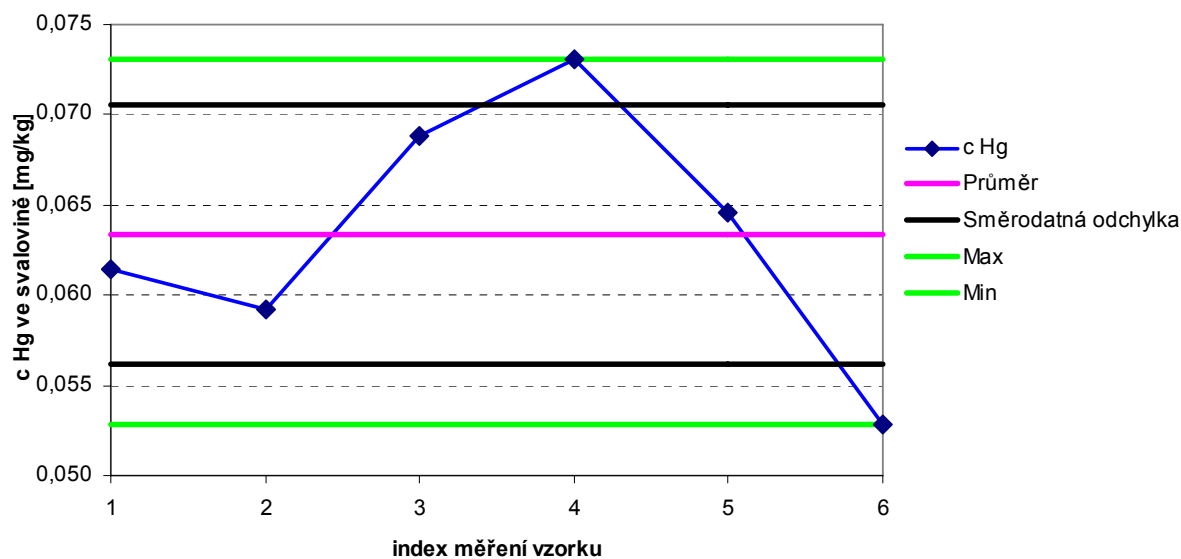
Uzené rybí výrobky obsahovaly menší koncentrace rtuti. Při tepelné úpravě může docházet k vytěkání rtuti z rybího masa.

U vzorku uzeného lososa byla stanovena koncentrace rtuti $61,0 \pm 6,3 \mu\text{g/kg}$ (obr. 3.6).

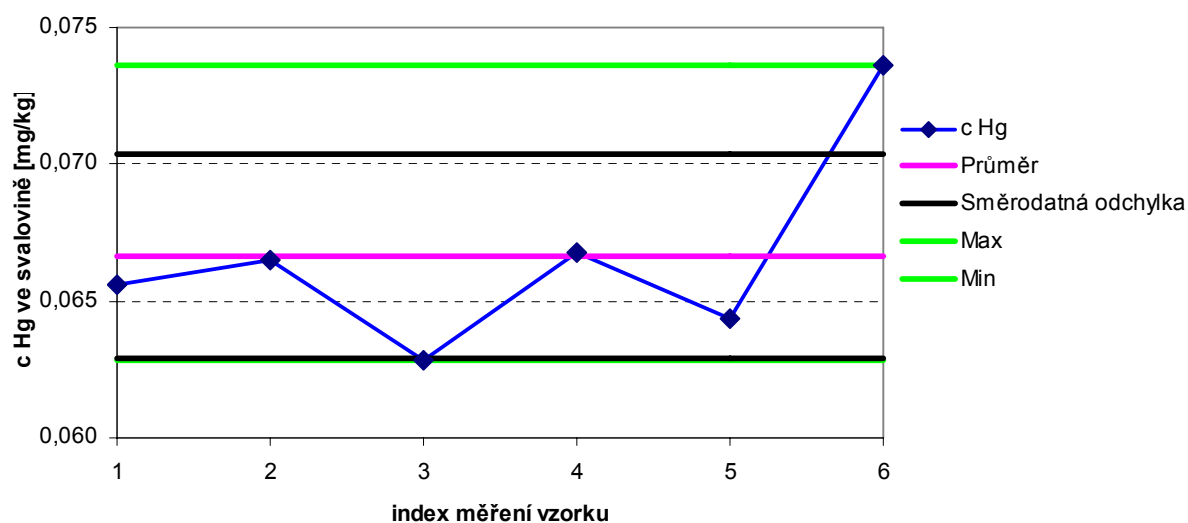
U vzorku uzené makrely byla očekávána vyšší koncentrace rtuti, neboť se jedná o tučnější rybu. Schopnost akumulace rtuti v tucích je dobře známá [55]. Naměřená hodnota koncentrace u vzorku uzené makrely je $72,0 \pm 4,3 \mu\text{g/kg}$ (obr. 3.8).

U vzorku uzených šprotů byla stanovena koncentrace rtuti $66,0 \pm 5,5 \mu\text{g/kg}$. Naměřená hodnota koncentrace rtuti koreluje s postavením ryby v potravním řetězci (obr. 3.9).

3.2.5 Kapr obecný, pstruh duhový



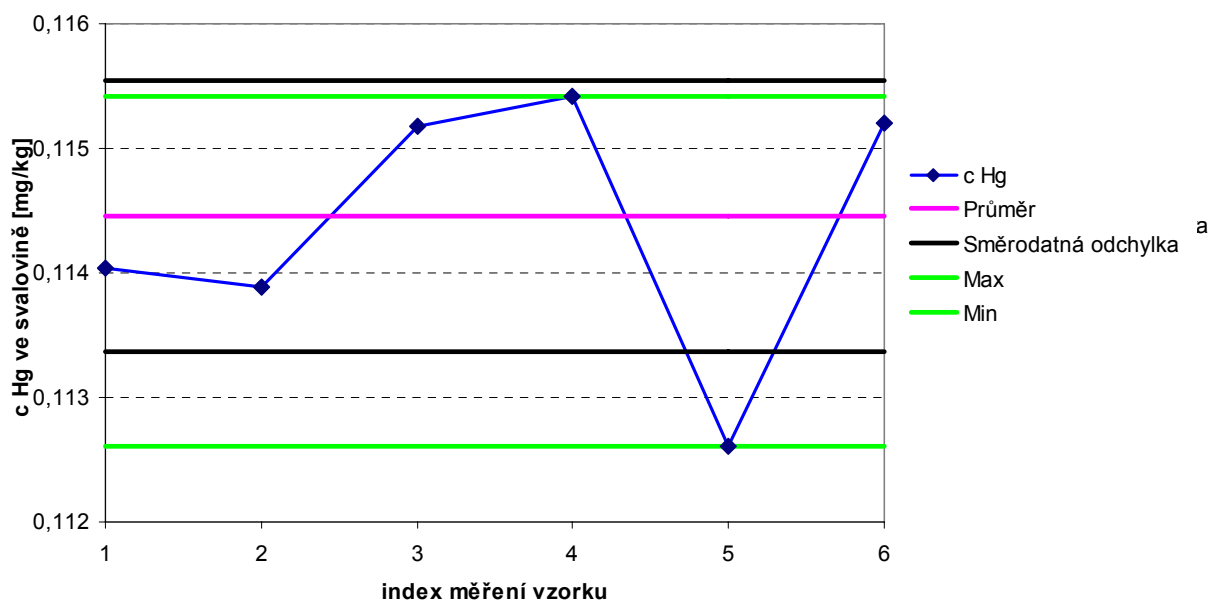
Obr. 3.9: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 13 (Kapr obecný).



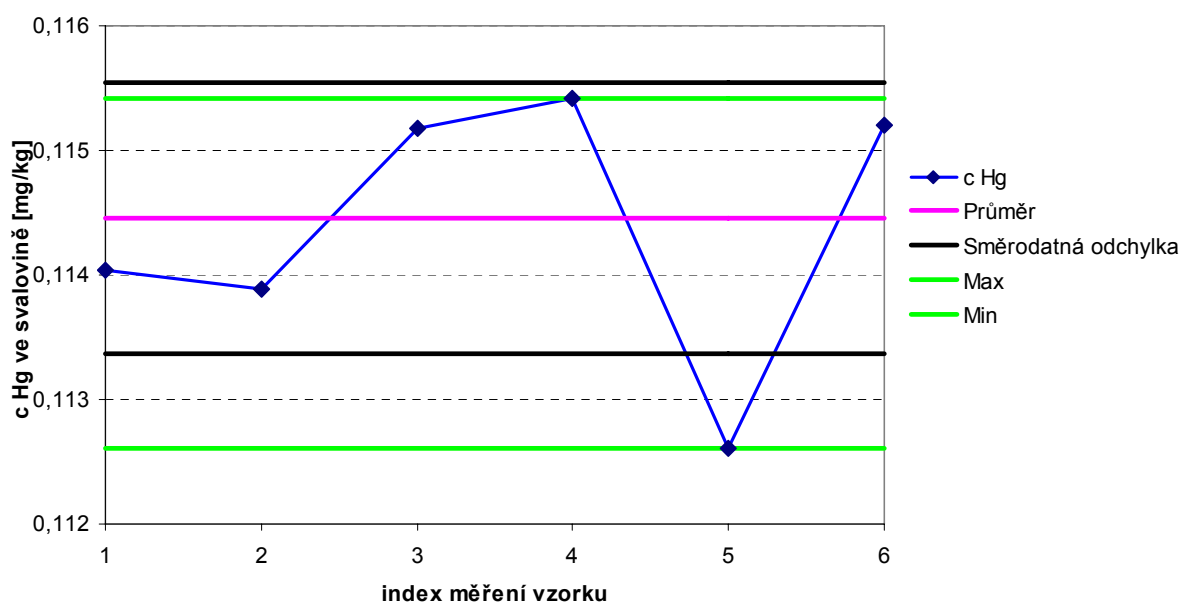
Obr. 3.10: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 4 (Pstruh duhový).

U vzorku kapra obecného byla zjištěna koncentrace rtuti $63,0 \pm 7,2 \mu\text{g/kg}$ (obr. 3.9) a u pstruha duhového $67,0 \pm 3,7 \mu\text{g/kg}$ (obr. 3.10). Nízká hodnota koncentrace rtuti u obou vzorků je dána kontrolovaným chovem.

3.2.6 Sledí filety, tuňák v rostlinném oleji



Obr. 3.11: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 11 (Sledí filety).

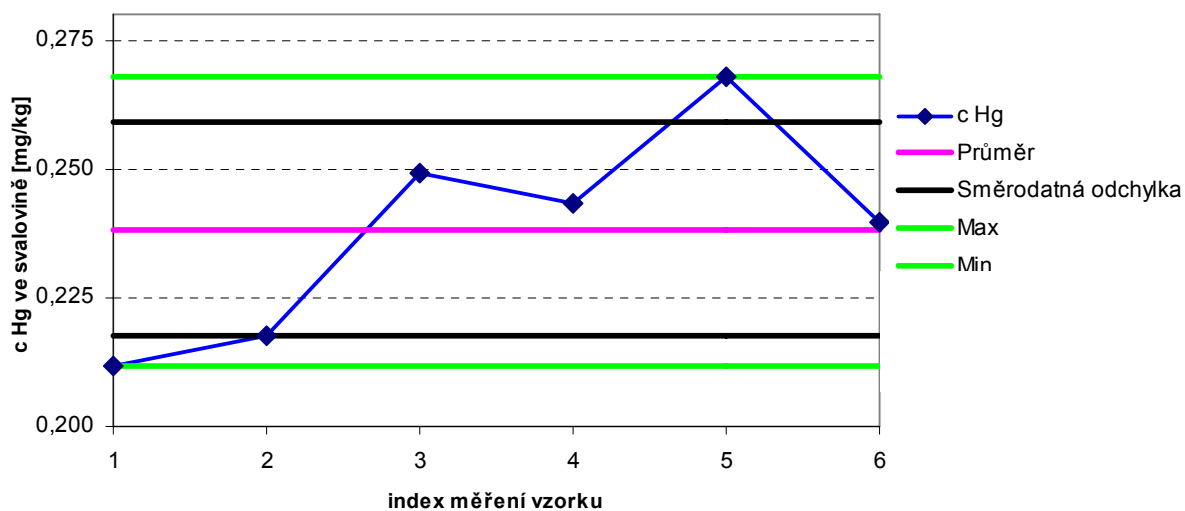


Obr. 3.12: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 7 (Tuňák v rostlinném oleji).

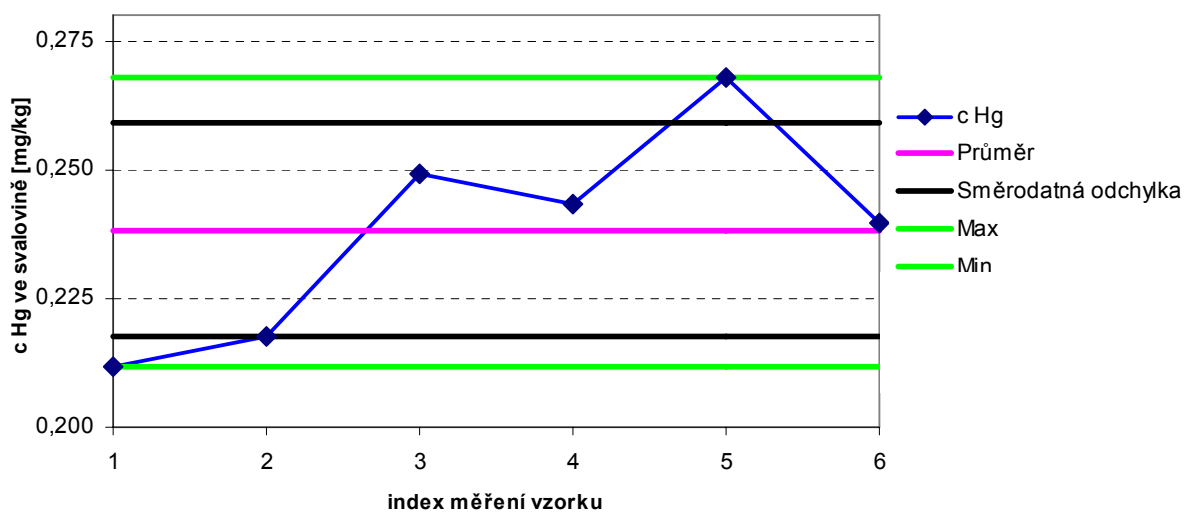
U vzorku tuňáka v rostlinném oleji (obr. 3.12) byla očekávána vyšší koncentrace rtuti, neboť se nachází výše v potravním řetězci a je loven přímo z moří/oceánů. Koncentrace Hg však byla v porovnání s ostatními vzorky relativně nízká ($110,0 \pm 1 \mu\text{g/kg}$), což lze zdůvodnit složením výrobku. Konzervovaný tuňák je obvykle vyráběn z menších druhů a ne z tuňáků bílých, žlutoploutvých, modroploutvých a jiných větších druhů. Na obalu výrobku nebyl druh tuňáka uveden.

U vzorku sledích filet je koncentrace rtuti $100 \pm 11 \mu\text{g/kg}$ (obr. 3.12).

3.2.7 Tolstolobik bílý, tresčí játra



Obr. 3.13: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 12 (Tolstolobik bílý).

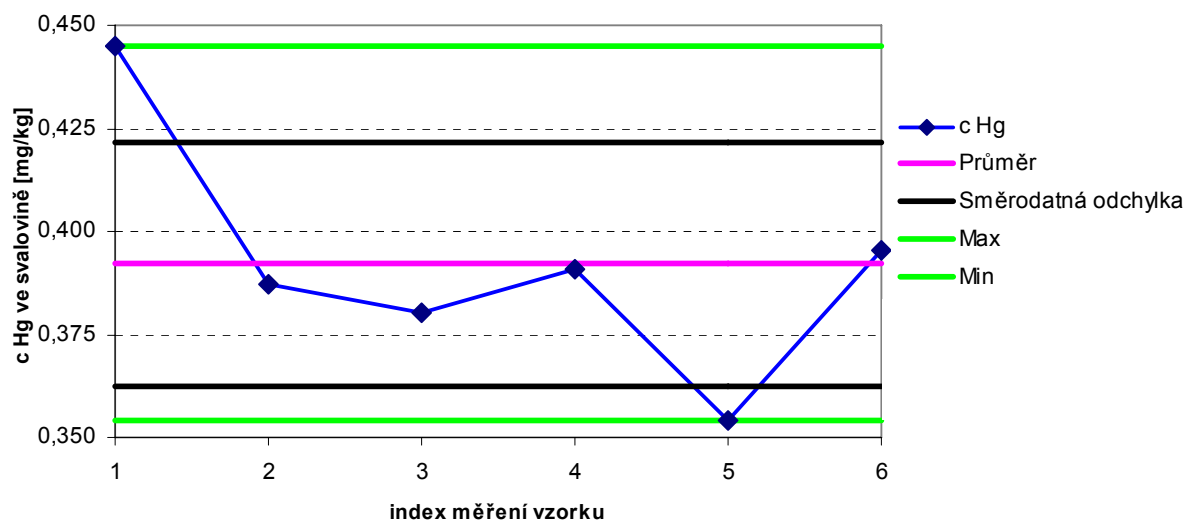


Obr. 3.14: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 8 (Tresčí játra).

Poměrně vysoká koncentrace rtuti v tresčích játrech ($240 \pm 21 \mu\text{g/kg}$) patrně souvisí s faktem, že rtuť je v játrech snadno akumulována.

U vzorku tolstolobika bílého byla stanovena koncentrace rtuti $220 \pm 16 \mu\text{g/kg}$.

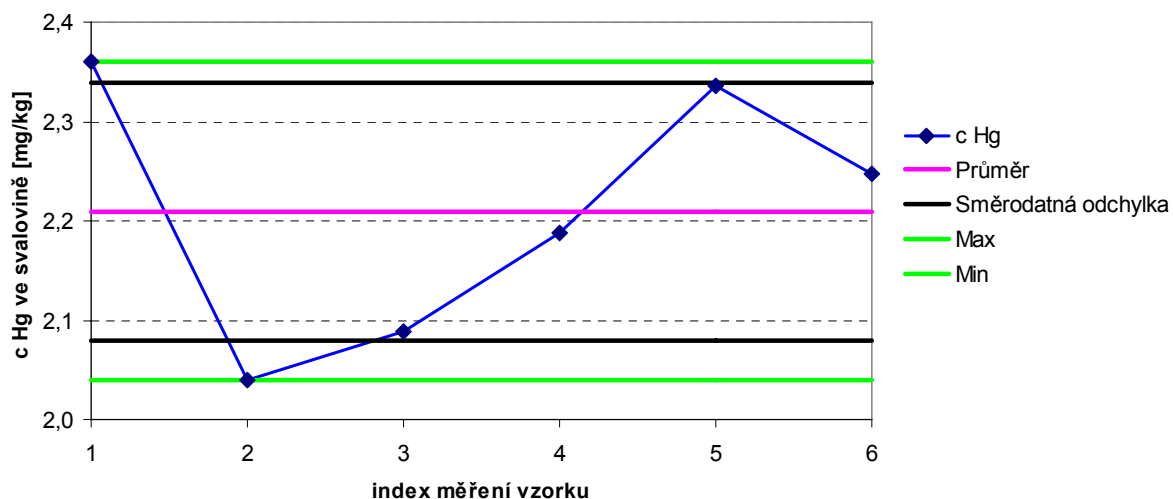
3.2.8 Pražma modravá



Obr. 3.15: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 5 (Pražma modravá).

U vzorku pražmy modravé byla naměřena poměrně vyšší koncentrace rtuti ve srovnání s ostatními vzorky ryb/rybích produktů ($390 \pm 30 \mu\text{g/kg}$). Vyšší koncentrace rtuti souvisí s postavením pražmy modravé v potravním řetězci (dravec).

3.2.9 Žralok modrý



Obr. 3.16: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 1 (Žralok modrý).

U vzorku ze žraloka modrého byla stanovena koncentrace rtuti $2200 \pm 130 \mu\text{g/kg}$. Vyšší koncentrace rtuti ve vzorku žraloka modrého, souvisí s postavením žraloka modrého na vrcholu potravního řetězce. Z výsledku analýzy žraloka modrého vyplynulo, že byl překročen maximální limit celkové rtuti stanovený ES, který je $1000 \mu\text{g/kg}$ (příloha 1).

3.3 Přehled naměřených výsledků a porovnání s jinými dostupnými studiemi

Sumář naměřených koncentrací rtuti v svalovině ryb a rybích produktech uvádí tab. 3.1.

Tab. 3.1: Výsledky stanovení celkového obsahu rtuti a koncentrace rtuti v rybách/rybích produktech.

Index vzorku	Název vzorku	Obsah THg ve vzorku rybí svaloviny [ng]	Koncentrace THg v rybí svalovině [µg/kg]
1	Žralok modrý	220,00 ± 23,00	2200 ± 130
2	Pangasius	1,10 ± 0,14	12,0 ± 1,1
3	Krabí tyčinky	2,60 ± 0,12	25,00 ± 0,21
4	Pstruh duhový	6,80 ± 0,47	67,0 ± 3,7
5	Pražma modravá	41,00 ± 1,90	390 ± 30
6	Sardinky v rostlinném oleji	2,90 ± 0,28	28,0 ± 1,6
7	Tuňák v rostlinném oleji	11,00 ± 0,34	110,0 ± 1,0
8	Tresčí játra	28,00 ± 5,90	240 ± 21
9	Uzená makrela	7,30 ± 0,51	72,0 ± 4,3
10	Uzené šproty	6,70 ± 0,61	66,0 ± 5,5
11	Sledí filety	10,00 ± 1,80	100 ± 11
12	Tolstolobik bílý	21,00 ± 1,20	220 ± 16
13	Kapr obecný	6,30 ± 0,79	63,0 ± 7,2
14	Uzený losos	6,00 ± 0,37	61,0 ± 6,3

Na obr. 3.17 jsou srovnány naměřené koncentrace rtuti v rybí svalovině s nařízením Evropské komise (ES) č. 420/2011. Naměřené koncentrace THg ve zkoumaných vzorcích jsou uvedeny jako dvě datové řady odlišných měřitek, neboť norma uvádí dvě různé hodnoty maximální přípustné koncentrace rtuti v rybách/rybích produktech.

Vzorek tresčích jater a krabích tyčinek nebyl zahrnut do grafického srovnání, neboť výše uvedené legislativní nařízení se vztahuje pouze na svalovinu ryb.

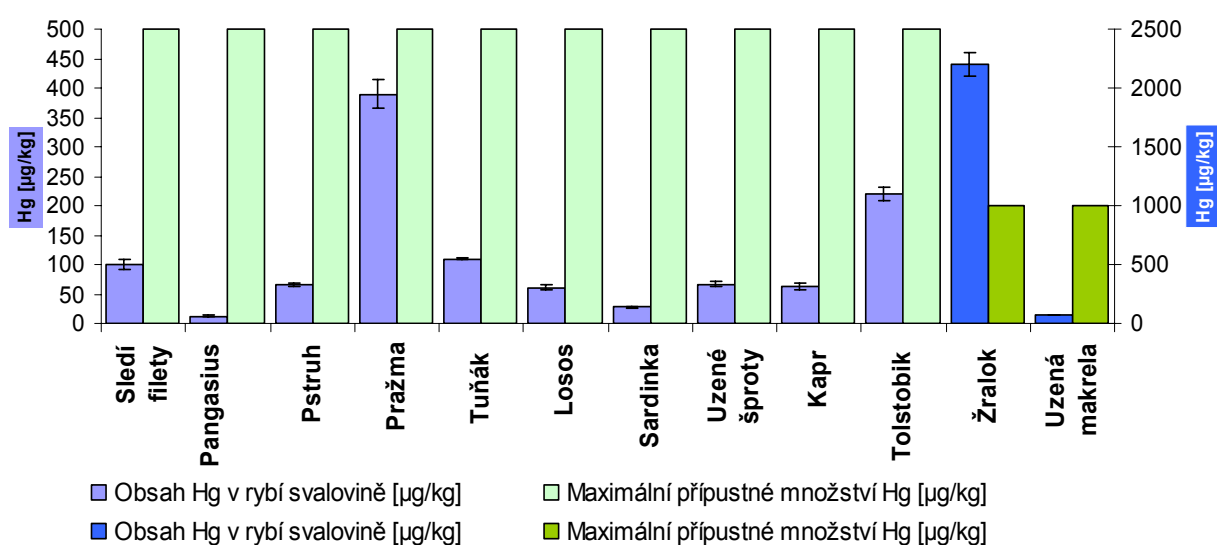
U vzorku steaku ze žraloka modrého byla překročena maximální povolená koncentrace rtuti podle ES č. 420/2011, a to více jak dvojnásobně. Ostatní vzorky této směrnici vyhověly.

Na obr. 3.18 jsou srovnány koncentrace rtuti ve všech vzorcích použitých v této diplomové práci. Naměřené hodnoty koncentrace THg ve zkoumaných vzorcích jsou uvedeny jako dvě datové řady odlišných měřitek, neboť se stejným měřítkem by rozdíly byly nepatrné. Koncentrace rtuti v měřených vzorcích klesala v následujícím pořadí : žralok modrý, pražma modravá, tresčí játra, tolstolobik bílý, kapr obecný, uzený losos, sardinky v rostlinném oleji, krabí tyčinky a pangasius.

Naměřená data byla porovnána s výsledky analýz vzorků ryb a rybích produktů, které byly v letech 2001–2004 provedeny kontrolními organizacemi pro potraviny (SVS, SZPI, OOVZ) a CHPŘ (tab. 3.2). Konkrétní sumář provedených analýz lze zhlédnout v dokumentu *Methylrtuť v rybách a rybích výrobcích*, jenž publikoval Vědecký výbor pro potraviny. K analýze byl použit přístroj AMA 254 [33].

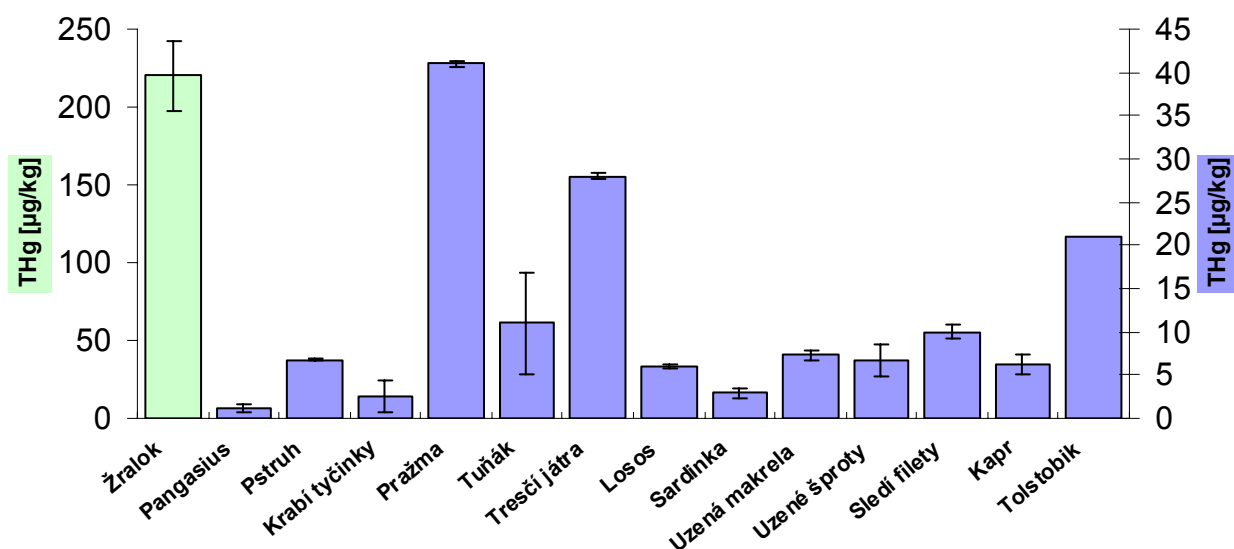
Z výsledků lze usoudit, že koncentrace rtuti stanovené ve většině ryb a rybích výrobků v rámci této diplomové práce souhlasí s výsledky zveřejněnými kontrolními orgány ČR. Drobné odchylky hodnot mohou být způsobeny tím, že kontrolní orgány vždy analyzovaly jeden druh ryby/rybího výrobku od různých dodavatelů a prodejců, zatímco v této práci byl vždy analyzován pouze jeden konkrétní výrobek. Vyšší koncentrace rtuti byly naměřeny ve vzorcích pražmy modravé, tresčích játrech, uzených šprotech a v tolstolobikovi bílém, ale norma EU nebyla překročena.

Koncentrace THg v rybí svalovině



Obr. 3.17: Srovnání naměřeného obsahu THg ve svalovině ryb a konzultace s nařízením Evropské komise (ES) č. 420/2011.

THg v rybách a rybích produktech

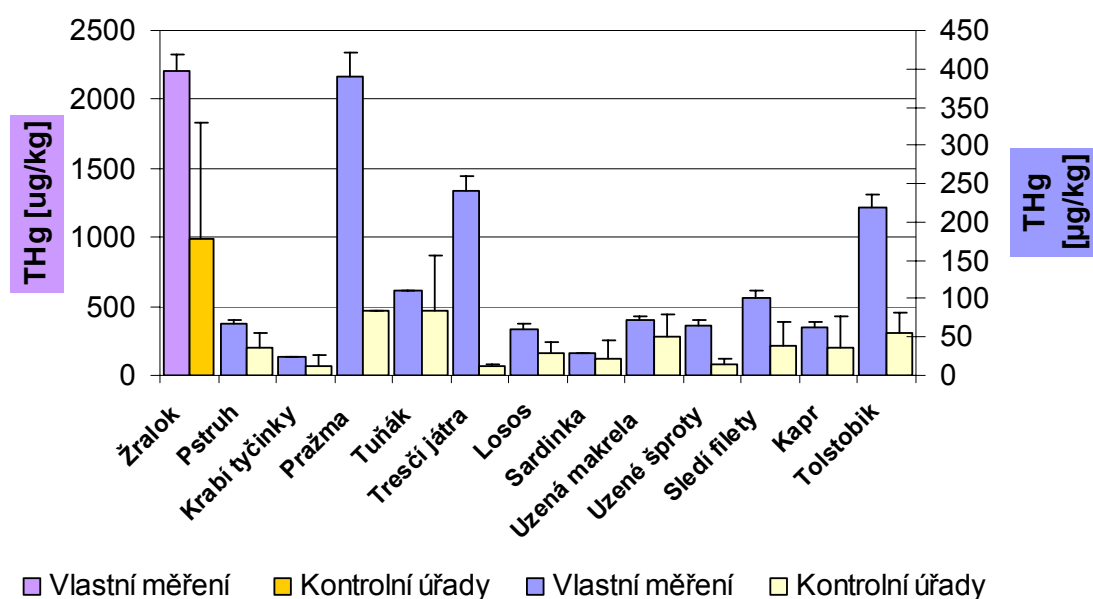


Obr. 3.18: Srovnání obsahu THg ve vybraných rybách a rybích produktech.

Tab. 3.2: Srovnání naměřené THg v rybách a rybích produktech s daty kontrolních úřadů [33].

Index vzorku	Název vzorku	Naměřená data Koncentrace THg v rybí svalovině [$\mu\text{g/kg}$]	Data kontrolních úřadů Koncentrace THg v rybí svalovině [$\mu\text{g/kg}$]
1	Žralok modrý	2200 ± 130	990 ± 840
2	Pangasius	$12,0 \pm 1,1$	
3	Krabí tyčinky	$25,00 \pm 0,21$	12 ± 15
4	Pstruh duhový	$67,0 \pm 3,7$	36 ± 19
5	Pražma modravá	390 ± 30	85
6	Sardinky v rostlinném oleji	$28,0 \pm 1,6$	21 ± 24
7	Tuňák v rostlinném oleji	$110,0 \pm 1,0$	84 ± 73
8	Tresčí játra	240 ± 21	11 ± 4
9	Uzená makrela	$72,0 \pm 4,3$	50 ± 30
10	Uzené šproty	$66,0 \pm 5,5$	15 ± 6
11	Sledí filety	100 ± 11	38 ± 32
12	Tolstobik bílý	220 ± 16	56 ± 27
13	Kapr obecný	$63,0 \pm 7,2$	35 ± 41
14	Uzený losos	$61,0 \pm 6,3$	29 ± 15

Srovnání naměřených dat koncentrace THg s daty kontrolních úřadů ČR



Obr. 3.19: Srovnání naměřených dat koncentrace THg s daty zpracovanými kontrolními úřady v ČR.

ZÁVĚR

V diplomové práci byla řešena problematika stanovení celkové rtuti v reálných vzorcích ryb a rybích produktů. Veškeré vzorky, reprezentující běžný spotřební koš, byly zakoupeny v síti supermarketů v Brně. Mezi vzorky byly zařazeny tyto produkty: Žralok modrý, pangasius, krabí tyčinky, pstruh duhový, pražma modravá, sardinky v rostlinném oleji, tuňák v rostlinném oleji, tresčí játra, uzená makrela, uzené šproty, sledí filety, tolstolobik bílý, kapr obecný a uzený losos.

Vzorky byly zpracovány a byla použita technika lyofilizace k odstranění vody. Ke zjištění koncentrace celkové rtuti byl použit jednoúčelový atomový absorpční spektrometr AMA 254. Koncentrace rtuti ve vybraných vzorcích ryb a rybích produktů vzrůstala v následujícím pořadí: pangasius < krabí tyčinky ≤ sardinky v rostlinném oleji < uzený losos ≤ kapr obecný ≤ uzené šproty ≤ pstruh duhový < uzená makrela < sledí filety < tuňák v rostlinném oleji < Tolstolobik bílý ≤ tresčí játra < pražma modravá < žralok modrý. Koncentrace celkové rtuti se pohybovala v rozmezí 12–2200 µg/kg.

Naměřená data byla ve shodě s daty získanými státními kontrolními institucemi, pouze u pražmy modravé, tresčích jater, uzených šprotů a u tolstolobika bílého byla naměřena vyšší koncentrace v porovnání se studií [33]. Všechny vzorky kromě žraloka modrého splňovaly normu ES č. 420/2011.

Naměřené koncentrace rtuti odpovídají původu vzorku a postavení daného druhu v potravním řetězci.

Konzumace ryb vybraných v této diplomové práci z hlediska obsahu rtuti nepředstavuje pro zdraví výrazné riziko. Výsledky diplomové práce však potvrdily, že konzumace dravých ryb by měla být množstevně omezena, zvláště pak u malých dětí, těhotných a kojících žen. Organizace EFSA doporučuje omezit konzumaci dravých ryb na maximum 170 g týdně.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Houserová, P., et al.: *Chemické formy rtuťi ve vodních ekosystémech vlastnosti, úrovně, koloběh a stanovení*, Chemické listy 100, 862–876, 2006
- [2] IOMC Ženeva, UNEP Chemicals: *Global mercury assesement*, 28–49, 2002
- [3] Iverfeldt, A.: *Occurence and turnover of atmospheric mercury over the Nordic countries*, Water, Air & Soil Pollution 56, 251–265, 1191
- [4] U. S. Department of healt and human services: *Toxicological profile for mercury*, Agency for Substances and Disease Registry, 33–74, 380–396, 1999
- [5] Chester D., Steven. E.: *Michigan department of environmental quality mercury strategy staff report*, 28–35, 2008
- [6] Schroeder, W. H., Munthe, J.: *Atmospheric mercury – an overview*, Atmospheric environment 32, 809–823, 1198
- [7] Dastoor, A.P., Larocque, Y.: *Global circulation of atmospheric mercury: a modelling study*, atmospheric Environment 38, 147–161, 2003
- [8] Wang, Q. et al.: *Sources and remediation for mercury contamination in aquatic systems – a literature review*, Environmental Pollution 131, 323–336, 2004
- [9] Won, J.H., Park, J.Y., Lee, T.G.: *Mercury emissions from automobiles using gasoline, diesel, and LPG*, Atmospheric environment 4, 7547–7552, 2007
- [10] Pacyna, E.G., Pacyna, J.M., Pirrone, N.: *European emissions of atmospheric mercury from antropogenic sources in 1995*, Atmospheric Environment 35, 2987–2996, 2002
- [11] Kuman, A.: *Sustainability and gold mining in the developing world*, Journal of Cleaner Production 14, 315–323, 2006
- [12] Hoffman, D.J., et al.: *Handbook of ecotoxikology*, 2.vyd. Boca Raton: CRS Press LLC, 1290, ISBN 1–56670–546–0, 2003
- [13] Gbaruko, B.C., Friday, O.U.: *Bioaccumulation of heavy metals in some fauna and flora*, Int. J. Environ. Sci. Tech., 4 (2), 197–202, 2007
- [14] Reza, R.; Singh, G.: *Assessment of heavy metal contamination and its indexing approach for river water*, Int. J. Environ. Sci. Tech., 7 (4), 785–792, 2010
- [15] Maršálek, P.: *Methylrtuť ve vodních ekosystémech*, Bulletin VÚRH Vodňany, 42 (3), 117–124, 2006
- [16] ŠTEFANIDESOVÁ, V., TREFILOVÁ, T.: *Formy výskytu rtuti v kontaminovaných půdách a říčním sedimentu*, Sborník VŠB – Technická univerzita Ostrava, Řada hornicko-geologická, 105–116, 2003, ISSN 0474–8476
- [17] Fara M.: *Problematika emisí rtuti*, Rešeršní studie k zakázce Technických služeb ochrany ovzduší Praha a. s. v rámci projektu MŽP VaV SM 9/14/04, 2004
- [18] GÖTHBERG, A., GREGER, M.: *Formation of methyl mercury in an aquatic Macrophyte*, Chemosphere, vol. 65, pp. 2096–2105, 2006

- [19] *Toxicological Effects of Methylmercury*, 2002. Dostupné 1. 3. 2011 z <http://books.nap.edu/openbook.php?record_id=9899&page=1>
- [20] Mason, R.: *Toxic metals in the Northeast: From biological to environmental implications*, University of Connecticut. Dostupné 5. 2. 2011 z <<http://sp.uconn.edu/~rom05001/projects.html>>
- [21] Kafka, Z., Punčochářová, J.: *Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita*, Chemické listy 96, 611–617, 2002
- [22] PALENZUELA, B., et al.: *Monitoring inorganic mercury and methylmercury species with liquid chromatography – piezoelectric detection*, Analytica Chimica Acta, vol. 511, pp. 289–294, 2004
- [23] Tichý, M.: *Toxikologie pro chemiky*, Univerzita Karlova v Praze nakladatelství Karolinum, Praha 2003, ISBN 80–246–0566–X
- [24] Bardoděj, Z.: *Úvod do chemické toxikologie*, Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, Praha 1999, ISBN 80–7184–978–2
- [25] Tuček, M.: *Současná zdravotní rizika expozice rtuti a jejím sloučeninám*, 1.lékařská fakulta UK, Praha, 2006
- [26] Graeme, K.A., Pollack A.V.: *Heavy metal toxicity, part 1: Arsenic and mercury*, The Journal of Emergency Medicine, Vol 16, 45–56, 1998
- [27] Rusek, V.: *Základy toxikologie a úvod do problematiky hygieny a bezpečnosti práce v chemické laboratoři*, Pardubice 2001. Dostupné 3. 2. 2011 z <<http://webak.upce.cz/~uozp/skripta/uozp-skripta-tox-rusek.pdf>>
- [28] Velíšek, J.: *Chemie potravin*, díl 2, kap. 6, str. 100–107, OSSIS, Tábor 2002, ISBN 80–86659–01–1
- [29] Prokeš, J.: *Úvod do toxikologie*, 1. Lékařská fakulta Praha, Praha 2005. Dostupné 4. 1. 2011 z <<http://soudni.lf1.cuni.cz/Data/files/skripta2005.doc>>
- [30] Birkett, J. W., Lester, J.: *Distribution of mercury and methylmercury in the sediments of a lowland river system*, Proc. R. Soc. A., vol. 461, 2005. Dostupné 10. 2. 2011 z <<http://rspa.royalsocietypublishing.org/content/461/2057/1335.full>>
- [31] Ekino, S., Susa, M., Imamura, K.: *Minamata disease revisited: An update on the acute and chronic manifestations of methyl mercury poisoning*, Journal of the Neurological Sciences 262, 131–144, 2007
- [32] Ruprich, J.: *Monitoring zdravotního stavu obyvatelstva*, Státní zdravotní ústav Praha, 2002. Dostupné 11. 2. 2011 z <<http://www.chpr.szu.cz/monitor/tds05c/CHEMON/anorg/HG.pdf>>
- [33] Drápal, J., Ettlerová, K., Hajšlová, J., Hlúbik, P., Jechová, M., Kozáková, M., Malíř, F., Ostrý, V., Ruprich, J., Sosnovcová, J., Špelina, V., Winklerová, D.: *Stanovisko vědeckého výboru ve věci: Methylrtuť v rybách a rybích výrobcích*, Brno, 2004, VVP: STAN/2004/5/deklas/Hg/rev1
- [34] Mráz, J., Stránský, V.: *Biologické monitorování a biologické expoziční testy*, Státní zdravotní ústav ČR, 2008. Dostupné 2. 3. 2011 z <<http://www.szu.cz/tema/pracovni-prostredi/biologicke-monitorovani-a-biologickeexpozični-testy>>

- [35] ENVIS – informační servis o životním prostředí v Praze [databáze online]: *Monitorování zdravotního stavu obyvatel ve vztahu k ŽP – Biologický monitoring*, 2007. Dostupné 3. 2. 2011 z
<[http://envis.prahamesto.cz/\(isnkkc45aniv0w3ykhlwob55\)/zdroj.aspx?typ=2&Id=73500&sh=1894956557](http://envis.prahamesto.cz/(isnkkc45aniv0w3ykhlwob55)/zdroj.aspx?typ=2&Id=73500&sh=1894956557)>
- [36] Černá, M.: *Zdravotní důsledky expozice lidského organismu toxickým látkám ze zvěrného prostředí (biologický monitoring)*, Odborná zpráva za rok 2009, Státní zdravotní ústav Praha, červenec 2010. Dostupné 11. 3. 2011 z
<<http://www.szu.cz/tema/zivotni-prostredi/odborne-zpravy-1>>
- [37] GOCHFELD, M.: *Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption*, Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 56, pp. 174–179, 2003
- [38] Hálková, J., Rumíšková, M., Rieglová, J.: *Analýza potravin*, Straka I., vydavatel odborných publikací, Újezd u Brna 2001, ISBN 80–86494–02–0
- [39] Mader, P., Čurdová, E.: *Metody rozkladu biologických materiálů pro stanovení stopových prvků*, Chem.listy 91, str. 227–236, ISSN 1213–7103
- [40] Spěváčková, V., Knotková, J.: *Prvková analýza klinických materiálů-aplikace elektrotermické atomové absorpční spektrometrie*, Chem.listy 92, str. 287–293, 1998
- [41] Herníková, V.: *Gelové techniky pro stanovení biodostupných forem rtuti ve vodných systémech*, VUT FCH, Vedoucí diplomové práce RNDr. Hana Dočekalová, CSc., 2004
- [42] Sommer, L.: *Analytická spektrometrie I.*, Státní pedagogické nakladatelství, Praha 1986, ISBN 112–4810
- [43] Dědina, J.: *Inovace v atomové absorpční a fluorescenční spektroskopii*, VŠCHT Praha 2007, ISBN 978–80–86238–33–3. Dostupné 9.2.2011 z
<<http://www.vscht.cz/anl/paci/PAC/prezentace/Inovace.pdf>>
- [44] Komárek, J.: *Atomová absorpční spektrometrie*, Masarykova Univerzita v Brně, Přírodovědecká fakulta, Brno 2000, ISBN 80–210–2500X
- [45] Mihaljevič, M., Strnad, L., Šebek, O.: *Využití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem v geochemii*, Chemické listy 98, str. 123–130, 2004, ISSN 1213–7103
- [46] Klouda, P.: *Moderní analytické metody*, Nakladatelství Pavel Klouda, Ostrava 2003, ISBN 80–86369–07–2
- [47] Zelinková, H.: *Stanovení rtuti ETAAS s dávkováním pevných vzorků*, Masarykova univerzita v Brně, Vedoucí práce prof. RNDr. Josef Komárek, DrSc., 2007
- [48] Pracovní návod: *Elektrotermická atomizace v AAS*. Dostupné 25.4.2011 z
<<http://web.natur.cuni.cz/analchem/pprakt/etaaas.pdf>>
- [49] Velíšek, J., Randák, T., Žlábek, V., Grabic, R.: *Kontaminace ryb z volných vod – zpráva za rok 2009*, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech, Vodňany 2009. Dostupné 1. 3. 2011 z
<<http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/bezpecnost-potravin/monitoring-cizorodych-latek/vysledkysledovani-kontaminace-ryb-z.html>>

- [50] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration: *Mercury Levels in Commercial Fish and Shellfish*, January 2006. Dostupné 1. 4. 2011 z <<http://www.fda.gov/food/foodsafety/product-specificinformation/seafood//foodbornepathogenscontaminants/methylmercury/ucm115644.htm>>
- [51] Burger, J., Gochfeld, M.: *Mercury in fish available in supermarkets in Illinois: Are the regional differences*, Science of the total Environment 367, 1010–1016, 2006
- [52] Augelli, M. A., Munoz, R. A. A., Richter, E. M., Cantagallo, M. I., Angnes L.: *Analytical procedure for total mercury determination in fishes and shrimps by chronopotentiometric stripping analysis at gold film electrodes after microwave digestion*, Food Chemistry 101, 579–584, 2007
- [53] Miklavčič, A., Stibilj, V., Heath, E., Polak, T., Tratnik, J. S., Klavž, J., Mazej, D., Horvat, M.: *Mercury, selenium, PCBs and fatty acids in fresh and canned fish available on the Slovenian market*, Food Chemistry 124, 711–720, 2011
- [54] Pracovní návod pro obsluhu AMA 254, Altec s.r.o. (2002)
- [55] Mason, R. P., Reinfelder, J. R., Morel, F. M. M.: Bioaccumulation of mercury and methylmercury, Water, Air & Soil Pollution, vol. 80, num. 1–4, 915–921

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

AAS	Atomová absorpční spektrometrie
AFS	Atomová fluorescenční spektrometrie
AMA 254	Advanced Mercury Analyser 254
ASV	Anodická rozpouštěcí voltametrie
CV-AAS	Atomová absorpční spektrometrie s technikou generace studených par
CV-AFS	Atomová fluorescenční spektrometrie s technikou generace studených par
ČR	Česká republika
EFSA	European Food Safety authority Evropský úřad pro bezpečnost potravin
ET-AAS	Atomová absorpční spektrometrie s technikou elektrotermizace
EU	European Union, Evropská unie
FAOSTAT	Food and Agriculture Organization Statistics, Statistika Organizace pro potraviny a zemědělství
HPLC	Vysoce účinná kapalinová chromatografie
CHPŘ	Centrum hygieny potravinových řetězců
ICP-MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ICP-OES	Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
LOD	Limit of detection Mez detekce
MeHg	Methylrtuť
MIP-AES	Atomová emisní spektrometrie s mikrovlnně vázanou plazmou
MZd	Ministerstvo zdravotnictví
NAA	Neutronová aktivační analýza
OOVZ	Orgány ochrany veřejného zdraví
SCOOP	Scientific Cooperation Program
SRN	Spolková republika Německo
SVS	Státní veterinární správa
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce
THg	Celková rtuť
WHO	World Health Organization Světová zdravotní organizace

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1.1: Přeměny rtuti ve vodním prostředí.....	12
Obr. 1.2: Světová mapa emisí rtuti.....	13
Obr. 1.3: Bio-chemický cyklus rtuti.....	15
Obr. 1.4: Závislost množství přítomné rtuti v rybách na jejich velikosti.....	17
Obr. 1.5: Postavení vodních organismů v potravní pyramidě.....	18
Obr. 1.6: Expoziční dávky rtuti pro různé věkové skupiny obyvatelstva	21
Obr. 1.7: Porovnání spotřeby ryb v Evropě podle SCOOP 2003 a FAOSTAT 2004	22
Obr. 1.8: Konzumace ryb a rybích výrobků v ČR (ČSÚ)	22
Obr. 1.9: Koncentrace rtuti v krvi dospělých (2005, 2007 a 2009).....	24
Obr. 1.10: Koncentrace rtuti v krvi dospělých s různou preferencí ryb	24
Obr. 1.11: Schéma AAS	27
Obr. 1.12: Schéma generování studených par se zkoncentrováním v amalgační trubici ...	28
Obr. 1.13: Schéma FI systému generování studených par se zachycením v elektrotermickém atomizátoru.....	28
Obr. 1.14: Schéma AMA 254.....	29
Obr. 1.15: Schéma CV-AFS analyzátoru	30
Obr. 1.16: Schéma ICP-OES	30
Obr. 1.17: Schéma ICP-MS.....	32
Obr. 1.18: Teplotní profil stanovení daného prvku pomocí metody ET-AAS.....	32
Obr. 1.19: Popis elektrotermického atomizátoru.....	33
Obr. 2.1: Analyzátor AMA 254, Altec ČR.....	35
Obr. 2.2: Lyofilizátor, Labconco USA.....	35
Obr. 2.3: Vzorek 1 (Žralok modrý).	35
Obr. 2.4: Vzorek 2 (Pangasius).	36
Obr. 2.5 : Vzorek 3 (Krabí tyčinky).	36
Obr. 2.6: Vzorek 4 (Pstruh duhový).	36
Obr. 2.7: Vzorek 5 (Pražma modravá).	37
Obr. 2.8: Vzorek 6 (Sardinky v rostlinném oleji).....	37
Obr. 2.9: Vzorek 7 (Tuňák v rostlinném oleji).....	37
Obr. 2.10: Vzorek 8 (Tresčí játra).	38
Obr. 2.11: Vzorek 9 (Uzená makrela).	38
Obr. 2.12: Vzorek 10 (Uzené šproty).	38
Obr. 2.13: Vzorek 11 (Sledí filety).....	39

Obr. 2.14: Vzorek 12(Tolstolobik bílý).....	39
Obr. 2.15: Vzorek 13 (Kapr obecný).....	39
Obr. 2.16: Vzorek 14 (Uzený losos).....	40
Obr. 2.17: Zpracované vzorky určené k lyofilizaci.....	41
Obr. 2.18: Zlyofilizované vzorky připravené k analýze.....	41
Obr. 2.19: Zlyofilizované vzorky připravené k analýze.....	42
Obr. 3.1: Sumář výsledků slepých pokusů AMA 254 pro stanovení Hg	44
Obr. 3.2: Sumář výsledků měření check standardů AMA 254.....	44
Obr. 3.3: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 2 (Pangasius).	45
Obr. 3.4: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 3 (Krabí tyčinky).	45
Obr. 3.5: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 6 (Sardinky).	46
Obr. 3.6: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 14 (Uzený losos).	46
Obr. 3.7: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 10 (Uzené šproty).	47
Obr. 3.8: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 9 (Uzená makrela).	47
Obr. 3.9: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 13 (Kapr obecný).	48
Obr. 3.10: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 4 (Pstruh duhový).	48
Obr. 3.11: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 11 (Sledí filety).	49
Obr. 3.12: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 7 (Tuňák).	49
Obr. 3.13: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 12 (Tolstolobik bílý)... ..	50
Obr. 3.14: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 8 (Tresčí játra).	50
Obr. 3.15: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 5 (Pražma modravá). ...	51
Obr. 3.16: Statisticky zpracovaný výstup dat z měření vzorku č. 1 (Žralok modrý).	51
Obr. 3.17: Srovnání naměřeného obsahu THg ve svalovině ryb a konzultace s nařízením Evropské komise (ES) č. 420/2011.	53
Obr. 3.18: Srovnání obsahu THg ve vybraných rybách a rybích produktech.	53
Obr. 3.19: Srovnání naměřených dat koncentrace THg s daty zpracovanými kontrolními úřady v ČR.....	54

SEZNAM TABULEK

Tab. 1.1: Speciační analýzy jednotlivých forem rtuti a jejich detekce	26
Tab. 2.1: Technické údaje AMA 254	42
Tab. 3.1: Výsledky stanovení celkového obsahu Hg a koncentrace Hg v rybí svalovině... ..	52
Tab. 3.2: Srovnání naměřené THg v rybách a rybích produktech s daty kontrolních úřadů	54

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Nařízení komise (EU) č. 420/2011	63
--	----

PŘÍLOHY

3.3	Rtuť	Maximální limity [mg/kg čerstvé hmotnosti]
3.3.1	Produkty rybolovu ⁽²⁶⁾ a svalovina ryb ⁽²⁴⁾ , ⁽²⁵⁾ kromě druhů uvedených v 3.3.2. V případě korýšů se maximální limit vztahuje na svalovinu z koncových částí a břicha ⁽⁴⁴⁾ . V případě krabů a krabům příbuzných korýšů (<i>Brachyura</i> a <i>Anomura</i>) se limit vztahuje na svalovinu z koncových částí.	0,50
3.3.2	Svalovina těchto ryb ⁽²⁴⁾ , ⁽²⁵⁾ : d'asi (<i>Lophius</i> spp.) vlkouš obecný (<i>Anarhichas lupus</i>) pelamida obecná (<i>Sarda sarda</i>) úhoři (<i>Anguilla</i> spp.) ryby druhu <i>Hoplostethus</i> hlavoun tuponosý (<i>Coryphaenoides rupestris</i>) platýz obecný (<i>Hippoglossus hippoglossus</i>) marlíni (<i>Makaira</i> spp.) pakambala (<i>Lepidorhombus</i> spp.) parmice (<i>Mullus</i> spp.) štika obecná (<i>Esox lucius</i>) palometa jednobarevná (<i>Orcynopsis unicolor</i>) treska (<i>Trisopterus minutus</i>) světloun bělooký (<i>Centroscymines coelolepis</i>) rejnoci (<i>Raja</i> spp.) okouníci (<i>Sebastes marinus</i> , <i>S. mentella</i> , <i>S. viviparus</i>) plachetník širokoploutvý (<i>Istiophorus platypterus</i>) tkaničnice (<i>Lepidopus caudatus</i> , <i>Aphanopus carbo</i>) růžichy (<i>Pagellus</i> spp.) žraloci (všechny druhy) makrelovité (<i>Lepidocybium flavobrunneum</i> , <i>Ruvettus pretiosus</i> , <i>Gempylus serpens</i>) jeseteři (<i>Acipenser</i> spp.) mečoun obecný (<i>Xiphias gladius</i>) tuňáci (rody <i>Thunnus</i> , <i>Euthynnus</i> , <i>Katsuwonus pelamis</i>)	1,0

(24) Ryby uvedené v této kategorii jsou definovány podle kategorie a) s výjimkou rybích jater kódu KN 03027000 ze seznamu v článku 1 nařízení Rady (ES) č. 104/2000 (Úř. věst. L 17, 21. 1. 2000, s. 22), naposledy pozměněné Aktem o podmínkách přistoupení České republiky, Estonské republiky, Kyprské republiky, Lotyšské republiky, Litevské republiky, Maďarské republiky, Republiky Malta, Polské republiky, Republiky Slovinsko a Slovenské republiky a o úpravách smluv, na nichž je založena Evropská unie a úpravami smluv, na nichž je založena Evropská unie (Úř. věst. L 236, 23. 9. 2003, s. 33). V případě sušených, naředěných, zpracovaných a/nebo vícesložkových potravin se použije čl. 2 odst. 1 a čl. 2 odst. 2.

(25) Je-li určena ke konzumaci celá ryba, vztahuje se maximální limit na celou rybu.

(26) Potravinu spadající do kategorie c) a f) ze seznamu v článku 1 nařízení (ES) č. 104/2000, v příslušných případech (druhy podle příslušného záznamu). V případě sušených, naředěných, zpracovaných a/nebo vícesložkových potravin se použije čl. 2 odst. 1 a čl. 2 odst. 2.

(44) Tato definice nezahrnuje hlavohrud' korýšů.

Příloha 1: Nařízení komise (EU) č. 420/2011 ze dne 29. dubna 2011, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách (článek 3.3 Rtuť)